



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DOS VALORES SÉRICOS DE TROPONINA CARDÍACA I (cTnI) E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE TOTAL (TAC) EM FELÍDEOS COM DOENÇA RENAL CRÓNICA E SEU VALOR
DE PROGNÓSTICO: ESTUDO PRELIMINAR

RICARDO JOSÉ GOULÃO DIAS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Henrique Duarte Correia
Doutor António José de Freitas Duarte
Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São Braz

ORIENTADORA

Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

2016

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DOS VALORES SÉRICOS DE TROPONINA CARDÍACA I (cTnI) E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE TOTAL (TAC) EM FELÍDEOS COM DOENÇA RENAL CRÓNICA E SEU VALOR
DE PROGNÓSTICO: ESTUDO PRELIMINAR

RICARDO JOSÉ GOULÃO DIAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Henrique Duarte Correia
Doutor António José de Freitas Duarte
Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São Braz

ORIENTADORA

Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

2016

LISBOA

Aos meu Pais!

Dedico esta dissertação aos melhores pais que alguma vez poderia ter. Todo o meu esforço e dedicação a este trabalho teria sido em vão sem o vosso apoio.

Obrigado por sempre acreditarem em mim!

“Mais vale ser chato que ficar chateado”

Miguel Gonçalves *in ISEG PitchBootcamp 2015*

Agradecimentos

De toda a dissertação, esta é provavelmente a parte mais difícil de escrever, pois são tantas as pessoas a quem tenho de agradecer que a certa altura começam a faltar adjectivos.

Quero em primeiro lugar agradecer aos melhores Pais que poderia desejar, por toda a dedicação, paciência e sacrifício feito durante esta etapa, durante todo o meu percurso na faculdade e ao longo da minha vida e que só um Pai sabe dar. Sempre estiveram do meu lado, mesmo quando não tinha razão. Quando muitos nem sequer acreditam em segundas oportunidades, vocês nunca desistiram de mim. Tudo o que fiz e continuarei a fazer será sempre para vos deixar orgulhosos.

Às minhas irmãs Sílvia e Vera, não podia desejar melhores irmãs, que tanta paciência tiveram para as minhas traquinices de infância, que tanto me ajudaram enquanto virem crescer, que sempre me apoiaram em tudo o que necessitasse. Não sei o que é ser irmão mais velho de alguém, mas teria em vós o meu melhor exemplo. Espero um dia poder vir a retribuir todo o apoio que me deram e deixar-vos orgulhosas.

Quero agradecer muito à Professora Berta, quem eu admiro muito, pela amabilidade e boa disposição com que sempre me recebeu e recebe os seus alunos, por todo o empenho na preparação das aulas e a fazer de nós melhores profissionais. Muito obrigado por me ter aceite como orientando, mesmo depois de eu já ter terminado o estágio e de todo o trabalho acumulado que já tinha em mãos. Muito obrigado pela muita paciência e compreensão que teve sempre comigo. Nunca me esquecerei do que fez por mim.

Quero também agradecer a todo o hospital escolar da faculdade de medicina veterinária, a começar pela fantástica equipa de médicos-veterinários que ao longo de 6 meses me acompanharam e transmitiram uma enciclopédia de conhecimentos e experiências profissionais de uma valia imensa, confiança em mim mesmo e até a sua amizade. Tenho respeito e admiração por todos eles, mas não poderia deixar de destacar o Dr. Gonçalo Vicente, a Dra. Inês Marques e a Dra. Ana Filipe, que me receberam sempre de braços abertos e sorriso na cara. Muito obrigado pelos conhecimentos transmitidos e apoio dado durante o estágio e já fora dele e pela vossa amizade. São os meus exemplos de profissionalismo e espero um dia ser tão bom como vós.

À Dra. Joana Pontes, pela disponibilidade e boa disposição com sempre me recebeu e ajudou, foi uma parte importantíssima deste trabalho, espero um dia conseguir compensá-la. O meu muito obrigado!

À Dra. Margarida Marques, que apesar de não ter estado presente durante o estágio, foi muito importante para este trabalho, pois sem a sua preciosa colaboração e paciência, não teria sido possível realizar todos aqueles exames ecocardiográficos e em tão curto espaço de tempo. O meu muito obrigado!

À Dra. Ana Reisinho, pela disponibilidade e boa disposição com sempre me recebeu. A sua contribuição foi igualmente importante para a realização deste trabalho, sobretudo ao nível da divulgação *online* do projecto.

Não poderia deixar de mencionar alguém extraordinário que tive a felicidade de conhecer e conviver, embora por pouco tempo, o Dr. Ricardo Marques. Foi das pessoas que mais me marcou, pela sua sempre boa disposição, profissionalismo e devoção para com os seus “patudos” e pela admiração e respeito que todos os alunos desta casa lhe tinham. Jamais me esquecerei dos momentos que passei perto dele, dos conhecimentos e confiança que me transmitiu. Foi um lutador e um exemplo a seguir, não só profissional, mas de vida. Muito obrigado por ter feito parte do meu percurso e dos meus colegas, jamais o esqueceremos.

Não posso deixar de agradecer à espetacular equipa de enfermeiros e auxiliares, sempre divertidos e prontos a ajudar, com tamanho profissionalismo e sem esperar nada em troca. Ao Filipe, Luís e Pedro, à Carla Silva, Carla Pardal, Catarina, Joana, Margarida, Patrícia, Rita, Sandra e Sofia, o meu muito obrigado!

O hospital inicia-se pela recepção e como tal não poderia deixar de agradecer a toda a equipa de recepcionistas, por todo o apoio prestado e boa disposição com sempre me receberam.

Quero também agradecer ao Professor Doutor António Ferreira, pelo precioso apoio na realização do estudo. Muito obrigado pela confiança depositada e por ter sempre a porta aberta.

Agradecer ao Dr. Telmo pelo precioso apoio dado na componente estatística, pela boa disposição e disponibilidade com sempre me recebeu.

Apesar de não vivermos em clima de grande prosperidade financeira, este trabalho contou ainda com a preciosa colaboração de uma empresa de distribuição de material laboratorial, a Meditecno, a quem quero muito agradecer o voto de confiança depositado em mim e no projecto, materializado com a oferta de material imprescindível à realização desta dissertação.

Quero também agradecer aos laboratórios Dr. Joaquim Chaves, pela recepção calorosa e disponibilidade imediata para a utilização do seu equipamento, para a medição de troponina cardíaca I, sem o qual seria possível realizar todos os testes efectuados neste estudo. O meu muito obrigado!

Não podia deixar de agradecer aos meus camaradas de estágio, Rúben e Susana, pelo companheirismo e grande amizade ao longo dos 6 meses de muito trabalho, mas também de grande diversão. Foram sem dúvida uma parte marcante nesta etapa e guardarei com muito afecto os momentos que passamos juntos. Antes que termine de uma vez por todas este capítulo, não me posso esquecer de agradecer à Catarina Duarte, a líder da “matilha” de estagiários, que contribuiu imenso para facilitar a nossa integração durante os primeiros meses de estágio, uma grande colega, uma grande amiga e um grande exemplo de vida. Muito Obrigado!

A todos o meu muito obrigado, espero não desiludir ninguém e é nesse sentido que continuarei a trabalhar.

Resumo

Existe um interesse cada vez maior em tentar compreender a complexa relação entre os rins e o sistema cardiovascular, tanto a nível fisiológico como patológico. A medicina adoptou o termo “Síndrome cardiorenal (SCR) para descrever a relação fisiopatológica entre a doença renal e cardíaca. Em medicina veterinária, a SCR foi recentemente definida e descrita por um grupo de consenso, porém a sua importância tanto no cão como no gato ainda requer mais investigação.

Assim este estudo teve como objectivo avaliar os valores séricos de troponina cardíaca I (cTnI) num grupo de gatos geriátricos (n=20), sem doença cardíaca diagnosticada, divididos em dois grupos, um grupo de animais com diagnóstico de doença renal crónica (DRC) (n=10) e um outro grupo de animais saudáveis (Controlo) (n=10), a fim procurar um eventual aumento nos valores de cTnI associado à DRC. Foi ainda avaliado em ambos os grupos a capacidade antioxidante total (TAC), com o objectivo de procurar um eventual estado pró-oxidante associado à DRC e relacionamento com os valores de cTnI. Os animais admitidos não apresentaram alterações ecocardiográficas sugestivas de doença cardíaca em curso (critério de exclusão) e serão futuramente reavaliados a fim de procurar um eventual valor de prognóstico dos valores séricos de cTnI e TAC para o aparecimento de lesões de hipertrofia ventricular esquerda, associadas à DRC e tempo de sobrevivência. Registou-se uma concentração média de cTnI superior no grupo DRC ($0,076 \pm 0,069$ vs $0,029 \pm 0,019$ ng/ml; $p < 0,05$), porém sem ter apresentado qualquer relação com a gravidade da azotémia ($r = 0,15$; $p = 0,53$ e $r = 0,17$; $p = 0,48$; creatinina e ureia, respectivamente). Verificou-se ainda uma correlação forte ($r = 0,69$; $p < 0,01$) com a espessura do septo interventricular em diástole (SIVd). Relativamente à TAC, os animais do grupo DRC apresentaram em média valores de TAC superiores aos do grupo controlo ($35,26 \pm 7,04$ vs $26,44 \pm 3,57$ $\mu\text{M}/\mu\text{l}$ equivalentes redutores de cobre; $p < 0,01$), valores esses que se apresentaram fortemente correlacionados com as concentrações de creatinina ($r = 0,76$; $p < 0,01$) e ureia ($r = 0,53$; $p < 0,05$). Os resultados da cTnI vão ao encontro de estudos anteriormente publicados, confirmando um aumento da concentração de cTnI em animais com DRC, novamente sem relação com o nível de azotémia. Ao nível da TAC, os resultados apontam para maior poder antioxidante no grupo de animais com DRC, sugerindo um possível reforço das defesas antioxidantes em resposta a um estado pró-oxidante existente na DRC azotémica. Face aos resultados preliminares, este estudo é merecedor de uma investigação mais aprofundada.

Palavras chave: Doença Renal Crónica, Troponina Cardíaca I, Stress Oxidativo, Capacidade Antioxidante Total

Abstract

There is a growing interest in understanding the complexity of interplay between the kidneys and the cardiovascular system, both in health and disease. Medicine has adopted the term “cardiorenal syndrome” (CRS) to describe the pathophysiological relationship between the kidney and heart disease. In veterinary medicine, the CRS has been defined and described recently by a consensus group, but its importance in dogs and cats warrants further investigation

The aim of this study was to evaluate the serum cardiac troponin I (cTnI) levels in a sample of geriatric feline patients (n=20), with no history or diagnosis of heart disease, separated in two groups: one of cats with chronic kidney disease (CKD) (n=10) and an other of apparently healthy cats (n=10), with the objective of comparing them and find out any increase in cTnI concentration associated with CKD. Simultaneously, we measured the serum total antioxidant capacity (TAC), to find any trace of a CKD related pro-oxidant state and its relation with cTnI. All animals admitted into this study were free of any echocardiographic changes suggestive of heart disease (exclusion criteria) and will be re-evaluated in the near future to investigate a possible prognostic value of this two markers for the development of left ventricle hypertrophy and death in feline CKD patients.

Cats with CKD showed higher cTnI values when compared with a group of healthy cats ($0,076 \pm 0,069$ vs $0,029 \pm 0,019$ ng/ml; $p<0,05$), although it didn't showed any correlation with blood creatinine ($r=0,15$; $p=0,53$) or urea ($r=0,17$; $p=0,48$) concentrations. cTnI correlated positively with interventricular septum thickness at end-diastole ($r=0,69$; $p<0,01$).

As for serum TAC, the CKD group showed higher concentrations than the control group ($35,26 \pm 7,04$ vs $26,44 \pm 3,57$ μ MCopper Reducing Equivalents/ μ L; $p<0,01$) and there was a positive, strong and moderate correlation with creatinine ($r=0,76$; $p<0,01$) and urea ($r=0,53$; $p<0,05$) concentrations, respectively.

The cardiac troponin results are similar to others previously published, confirming that CKD patients, with no cardiac illness, have higher cTnI concentrations than healthy subjects, but again not associated with the degree of azotemia. TAC results suggests a possible reinforcement of antioxidant systems in order to ameliorate the harmful effects of the pro-oxidant state of CKD. This results warrant further study.

Key words: Chronic Kidney Disease, Cardiac Troponin I, Oxidative Stress, Total Antioxidant Capacity.

Índice Geral

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	iv
Abstract	v
Índice Geral	vii
Índice de Figuras	ix
Índice de Gráficos.....	ix
Índice de Tabelas.....	x
Lista de Abreviaturas e Siglas.....	xi
I. Breve resumo das actividades desenvolvidas durante o estágio curricular	xiii
II. Introdução Teórica “Doença renal crónica felina e interação cardio-renal. Um modelo veterinário da síndrome cardio-renal tipo 4 no Homem?”.....	1
1. Doença Renal Crónica – Breve revisão de conhecimentos	1
1.1. Definição e epidemiologia	1
1.2. Etiologia	2
1.3. Diagnóstico	5
1.4. Fisiopatologia	10
III. Trabalho experimental “Avaliação dos valores séricos de troponina cardíaca I (cTnI) e capacidade antioxidante total (TAC) em felídeos com doença renal crónica”	36
1. Introdução	36
2. Objectivo	37
3. Materiais e métodos	37
3.3. Grupos em estudo	38
3.4. Recepção ao consultório, anamnese e exame físico	38
3.5. Determinação dos valores de pressão arterial	39
3.6. Exame físico	39

3.7.	Colheita e armazenamento de amostras biológicas	39
3.8.	Urianálise e urocultura	40
3.9.	Estadiamento da DRC	40
3.10.	Medição da troponina cardíaca I (cTnI)	40
3.11.	Determinação da capacidade antioxidante total (TAC)	41
3.12.	Ecocardiografia	41
4.	Análise estatística dos dados	42
5.	Resultados	43
5.1.	Caracterização da amostra populacional	43
5.2.	Sinais clínicos e alterações laboratoriais	44
5.2.2.	Hematócrito	47
5.3.	Ecocardiografia	48
5.4.	Troponina cardíaca I (cTnI)	50
5.5.	Capacidade Antioxidante Total (TAC)	52
6.	Discussão.....	54
7.	Conclusão	57
IV.	Bibliografia.....	59
V.	Anexos	85

Índice de Figuras

Figura 1. Envolvimento dos RLO na patogénese da DRC.	23
Figura 2. Esquema dos mecanismos postulados para a relação entre a disfunção cardíaca e renal.	29
Figura 3. Ilustração do aparelho contráctil de um cardiomiócito.	33
Figura 4. Sequência aminoacídica da troponina cardíaca I (cTnI) da espécie humana (<i>Homo sapiens</i>) e felídea (<i>Felis catus</i>).	41

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Histograma de idades, agrupado por grupo.	43
Gráfico 2. Caracterização da amostra quanto ao género	44
Gráfico 3. Distribuição dos sinais clínicos apresentados com maior frequência durante o acto de consulta.	44
Gráfico 4 e 5. Frequência de animais em cada estadio; Frequência de animais de acordo com o sub-estadio com base na proteinúria e distribuição dos mesmos dentro de cada estadio.	46
Gráfico 6. Distribuição dos valores de hematócrito nos dois grupos em estudo	47
Gráfico 7 e 8. Variação dos valores de hematócrito em função da concentração plasmática de creatinina e ureia.	47
Gráfico 9. Distribuição das concentrações séricas de cTnI nos dois grupos em estudo.	50
Gráfico 10 e 11. Variação dos valores séricos de cTnI em função dos valores plasmáticos de creatinina e de ureia.	51
Gráfico 12. Variação da concentração sérica de cTnI em função da espessura do septo interventricular em diástole (SIVd).	52
Gráfico 13. Distribuição dos valores de capacidade antioxidante total (expresso em equivalentes redutores de cobre por unidade de volume, $\mu\text{M/ml}$) nos dois grupos em estudo.	52
Gráfico 14 e 15. Variação da concentração sérica de TAC em função da concentração plasmática de creatinina e de ureia, de acordo com o estadio IRIS.	53

Índice de Tabelas

Tabela 1. Distribuição do número de horas de estágio pelos três departamentos.	xiv
Tabela 2. Prevalência dos principais sinais recolhidos na anamnese.	5
Tabela 3. Prevalência dos principais sinais recolhidos no exame físico.	6
Tabela 4. Lista de exames complementares ao diagnóstico de DRC.	8
Tabela 5. Estadiamento IRIS em função da concentração plasmática de creatinina (mg/dL).	8
Tabela 6. Sub-estadiamento em função dos valores de RPCU.	9
Tabela 7. Sub-estadiamento em função dos valores de PAS, com respectivo risco de lesão de órgão alvo atribuído. Adaptado de IRIS, 2015.	9
Tabela 8. Classificação em radicalar e não radicalar.	19
Tabela 9. Classificação da síndrome cardio-renal.	28
Tabela 10. Valores médios de cada um dos parâmetros bioquímicos analisados em cada grupo.	45
Tabela 11. Valores de densidade urinária média em cada um dos grupos analisados.	45
Tabela 12 e 13. Estadiamento por concentração plasmática de creatinina e sub-estadiamento em função da proteinúria.	46
Tabela 14. Valores de pressão arterial apresentados pelos grupos em estudo.	48
Tabela 15. Sub-estadiamento em função da PAS.	48
Tabela 16. Medições realizadas durante o exame ecocardiográfico.	49
Tabela 17. Concentração média de equivalentes redutores de cobre (TAC) por estadio, em comparação com o grupo controlo.	53

Lista de Abreviaturas e Siglas

a.a. - Amino-ácido
ABTS - Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
ACVIM - Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (*American College of Veterinary Internal Medicine*)
ADN - Ácido Desoxirribonucleico
AINE - Anti-inflamatório não esteróide
ALT - Alanina Aminotransferase
ATP - Adenosina Trifosfato
bpm - Batimentos por minuto
CAT - Catalase
CC - Condição corporal
CMH - Cardiomiopatia hipertrófica
COX - Cicloxigenase
CTGF - Factor de crescimento de tecido conjuntivo (*Connective Tissue Growth Factor*)
cTnI - Troponina cardíaca I
cTnT - Troponina cardíaca T
cTnC - Troponina cardíaca C
CUPRAC - Poder antioxidante por redução do ião cobre (*Cupric reducing antioxidant capacity*)
DPPH - Captação do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo
DVE - Diâmetro do Ventrículo Esquerdo
DRC - Doença renal crónica
DRA - Doença renal aguda
DUE - Densidade urinária específica
EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPO - Eritropoetina
ET - Endotelina
FC - Frequência cardíaca
FE - Fração de encurtamento
FeLV - Vírus da leucemia felina
FGF - Factor de crescimento fibroblástico (*Fibroblastic Growth Factor*)
FIV - Vírus da imunodeficiência felina
FRAP - Poder antioxidante por redução do ião férrico (*Ferric reducing ability of plasma*)
GGT - Gama-Glutamiltransferase
GPH-Px - Glutational peroxidase
GSH - Glutational reductase reduzida
GSSG - Glutational reductase oxidada
HIF - Factor induzido pela hipóxia (*Hypoxia inducible factor*)
HIV - Vírus da imunodeficiência humana
HPT - Hiperparatiroidismo
IBD - Doença inflamatória intestinal (*Inflammatory Bowel Disease*)
IECA - Inibidor da enzima de conversão da angiotensina
IL - Interleucina

IRIS - Sociedade Internacional de Interesse Renal (*International Renal Interest Society*)

ISFM - Sociedade Internacional de Medicina Felina (*International Society of Feline Medicine*)

LMWA - Antioxidante de baixo peso molecular (*Low molecular weight antioxidant*)

LOX - Lipoxigenase

MDA - Malonaldeído

NAG - N-acetil-beta-D glucosaminidase

NO - Monóxido de azoto

NT-proBNP - Subunidade terminal NT do péptido natriurético cerebral

NT-proANP - Subunidade terminal NT do péptido natriurético atrial

ORAC - Capacidade de absorção dos radicais de oxigénio (*Oxygen radical absorbance capacity*)

PAS - Pressão arterial sistólica

PAD - Pressão arterial diastólica

PAM - Pressão arterial média

PLVE_d - Parede livre do ventrículo esquerdo em diástole

PLVE_s - Parede livre do ventrículo esquerdo em sístole

PIF - Vírus da peritonite infecciosa felina

PT - Proteínas totais

PTH - Paratormona

RLO - Radical livre de Oxigénio

RLA - Radical livre de Azoto

RCPU – Rácio proteína creatinina urinária

rpm - Rotações por minuto

SI - Sulfato de indoxil

SIV_d - Septo interventricular em diástole

SIV_s - Septo interventricular em sístole

SNS - Sistema nervoso autónomo simpático

SOD - Superóxido dismutase

SRAA - Sistema renina angiotensina aldosterona

TAC - Capacidade antioxidante total (*Total antioxidant capacity*)

TAH - Transferência de átomos de hidrogénio

TBARS - Substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (*Thiobarbituric acid reactive substances*)

TE - Transferência de electrão

TEAC - Capacidade antioxidante em equivalentes de trolox (*Trolox equivalent antioxidant capacity*)

T4 - Tiroxina

TFG - Taxa de filtração glomerular

TGF - Factor transformador de crescimento (*Transforming Growth Factor*)

TG-2 - Transglutaminase 2

TNF - Factor de necrose tumoral (*Tumoral Necrosis Factor*)

TRAP - Parâmetro antioxidante de radicais totais (*Total reactive antioxidant capacity*)

UFC - Unidade formadora de colónias

VEGF - Factor de crescimento de endotélio vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

I. Breve resumo das actividades desenvolvidas durante o estágio curricular

O estágio curricular realizou-se no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária (Universidade de Lisboa), no período compreendido entre os dias 1 de Setembro de 2014 e 28 de Fevereiro de 2015, sob a orientação científica da Professora Doutora Maria Manuela Espada Niza Rodeia e posteriormente da Professora Doutora Berta São Braz. O Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa encontra-se situado no Pólo Universitário da Ajuda na cidade de Lisboa. Este hospital tem uma função pedagógica, ao contribuir para a formação de futuros Médicos Veterinários e proporcionar contacto e experiência dentro das diversas áreas clínicas desenvolvidas no hospital, sendo também um hospital de referência a nível regional e nacional.

O número de horas de estágio inicialmente previsto (aproximadamente 1100 horas) foi largamente ultrapassado, quer pelo interesse individual demonstrado na prática clínica presente, quer posteriormente para a angariação de casuística a integrar o estudo prospectivo realizado para o efeito de dissertação de mestrado integrado em medicina veterinária. Durante o período inicial de 1 de Setembro de 2014 a 28 de Fevereiro de 2015, as horas de estágio foram distribuídas de uma forma rotativa por 3 serviços, medicina interna, internamento e cirurgia. Uma vez terminado o estágio, o estagiário dedicou-se à angariação de casuística necessária à realização do estudo prospectivo que dá título à presente dissertação, através da pesquisa de animais na base de dados do sistema Qvet®, com idades superiores a 8 anos, com ou sem diagnóstico de doença renal crónica, com posterior telefonema a convidar para a realização de um painel de análises de reavaliação de doença renal crónica ou rastreio da mesma, respectivamente. O painel de análises foi realizado a preço reduzido, graças à colaboração da ACIVET (Associação para as Ciências Veterinárias), empresa responsável pela gestão do hospital escolar, sendo ainda o acto de consulta livre de custos. Estas foram na sua grande maioria conduzidas pelo estagiário, sendo outras realizadas sob o acompanhamento de médicos veterinários do corpo clínico do hospital, nomeadamente quando se mostrava necessário o internamento do animal em questão, pela gravidade do quadro clínico. Além da angariação de animais com registo clínico no hospital, foi ainda feita a divulgação do projecto e respectivas vantagens decorrentes da participação no mesmo, por meio da distribuição de panfletos de divulgação e informativos na sala de espera do hospital e ainda pela publicação da mesma informação *online* na página *website* do hospital escolar (Anexo 1).

Durante o período de estágio foram desenvolvidas actividades cujos principais objectivos foram o desenvolvimento do raciocínio clínico e a aquisição de conhecimentos e aptidões nas diversas áreas de clínica de animais de companhia. Assim, foi possível acompanhar os médicos veterinários e ter uma participação activa nas consultas de medicina interna, cirurgia, internamento e imagiologia, tendo ainda auxiliado na colheita de sangue de felídeo

para o banco de sangue do hospital escolar, através de uma visita à Fundação São Francisco de Assis.

O horário praticado pelos estagiários foi de 8 horas diárias, 5 dias por semana nos serviços de Medicina Interna e Cirurgia, alternados com dois turnos de 12 horas e outros dois de 24 horas no serviço de Internamento, mensalmente, tendo a seguinte distribuição (Tabela 1):

Tabela 1. Distribuição do número de horas de estágio pelos três departamentos.

Medicina Interna	600 horas
Internamento	374 horas
Bloco cirúrgico	128 horas

A casuística observada em medicina interna, foi bastante diversificada, com oportunidade para assistir a várias consultas nas especialidades de gastro-enterologia, cardiologia, ortopedia, dermatologia, endocrinologia, oncologia e neurologia, além das habituais consultas de profilaxia (vacinação e desparasitação).

O serviço de internamento foi o segundo local com maior número de horas dispendidas. No internamento além de ser possível fazer um acompanhamento de uma grande variedade de casos clínicos também é aqui que o estagiário tem uma maior autonomia para a realização de exames de estado geral e monitorização dos doentes, colocação de vias endovenosas, administração de fármacos, e preparação de cuidados pré-cirúrgicos.

Na cirurgia o papel do estagiário consiste essencialmente no apoio ao cirurgião, desde a preparação do animal a ser intervencionado às funções de ajudante de cirurgião, anestesista ou circulante. Após a intervenção cirúrgica, cabe ao estagiário realizar a monitorização pós-cirúrgica do animal.

Dentro do estágio foi possível acompanhar diversas cirurgias, em tecidos moles, em ortopedia, neurologia e oftamologia. Em cirurgia de tecidos moles, a maior parte das intervenções consistiu na realização de ovariectomias (electiva ou por piómetra), orquiectomias, nodulectomias e mastectomias e com menos frequência, resolução de torção gástrica e gastropexia, lobectomia hepática, uretostomia e ainda uma ureterostomia. Em ortopedia o cenário mais assistido foi o de correção de fracturas ósseas e em neurologia foi possível assistir a várias intervenções de correção de hérnias discais (Hemilaminectomia, *Ventral Slot*) e ainda a uma craniotomia para excisão de um meningioma, num canídeo de raça Boxer.

Foi ainda possível participar em vários procedimentos de endoscopia, alta e baixa, rinoscopia e otoscopia. Em oftamologia, a casuística observada incidiu sobretudo na resolução de cataratas por facoemulsificação e em dentestria consistiu sobretudo em procedimentos de destartarização e extração dentária.

Após o período de estágio os esforços também foram direccionados para a realização de contactos com empresas que estivessem disponíveis a colaborar com a realização do projecto. Após contactar várias empresas, a Meditecno, especializada na distribuição de material médico e de laboratório, gentilmente acedeu ao pedido e contribuiu com o fornecimento de um kit de medição de troponina cardíaca I, suficiente para 100 testes e ainda colaborou com a oferta do kit de avaliação de capacidade antioxidante total.

II. Introdução Teórica “Doença renal crónica felina e interação cardio-renal. Um modelo veterinário da síndrome cardio-renal tipo 4 no Homem?”

1. Doença Renal Crónica – Breve revisão de conhecimentos

1.1. Definição e epidemiologia

O termo “doença renal crónica” (DRC) refere-se a um processo de doença prolongada e progressiva, no qual ocorre a perda irreversível e permanente de tecido renal funcional em um ou ambos os rins (Polzin, 2011). Este processo ocorre com ou sem diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) ou com uma redução superior a 50% na TFG de forma persistente, durante um período mínimo de 3 meses (Polzin, 2010). Este período de tempo é um dos critérios de referência utilizados para o diagnóstico de DRC e é baseado no facto de a hipertrofia compensatória renal e a melhoria da função poderem continuar durante um período máximo de três meses, após uma perda aguda de nefrónios funcionais (Polzin, Osborne & Ross, 2005). Certas lesões renais podem estar associadas a alterações bioquímicas sem alterações morfológicas detectáveis, enquanto outras podem estar associadas a alterações morfológicas renais com efeitos variáveis na função renal (Polzin, 2010). Desta forma, a apresentação clínica, o diagnóstico e o tratamento podem variar bastante entre animais (Polzin, 2011).

A DRC é uma das mais importantes causas de mortalidade e morbilidade em gatos (Barber, 2003) e, embora possa ocorrer em qualquer idade, é diagnosticada mais frequentemente em animais de idade avançada (DiBartola, Rutgers, Zack & Tarr, 1987; Lulich, O'Brien, Osborne & Polzin, 1992; Lawler *et al.*, 2006; White, Norris, Baral & Malik, 2006; Boyd, Langston, Thompson, Zivin & Imanishi, 2008; Bartlett *et al.* 2010; Polzin, 2011a, Marino *et al.*, 2014). Num estudo realizado no Reino Unido, verificou-se que a DRC foi a principal causa de morte entre todos os felídeos com idade superior a 5 anos e a causa de morte em mais de 13% dos felídeos com uma idade média de 15 anos (O'Neill *et al.*, 2015). A sua prevalência aumenta com a idade, atingindo valores entre os 20-30% em gatos com mais de 12-15 anos (Lulich *et al.*, 1992; Boyd *et al.*, 2008; Bartlett *et al.* 2010).

Não aparenta ser afectada pelo género, sendo machos e fêmeas igualmente afectados, apesar de em alguns estudos se verificar alguma variabilidade no rácio entre géneros, quase sempre atribuído ao reduzido tamanho da amostra (DiBartola *et al.*, 1987; Lulich *et al.*, 1992; Elliott & Barber, 1998; White *et al.*, 2006; Syme & Dongen, 2009; Chakrabarti, Syme & Elliott, 2012; Marino *et al.*, 2014). White *et al.* (2006), realizaram um estudo prospectivo com uma amostra de 184 felídeos (99 fêmeas e 85 machos), no qual constataram uma média de idades inferior nos machos diagnosticados com DRC (idade média de 12 anos), quando comparados com a amostragem do género feminino (idade

média de 15 anos), tendo-se ainda verificado uma maior representação do género masculino para a faixa etária dos 9-11 anos de idade. Tal situação poderia apontar para uma maior predisposição do género masculino ao aparecimento de DRC numa fase mais precoce, porém se definirmos um limite de deteção mínimo de 1,6 mg/dL para a concentração plasmática de creatinina, uma vez que o género masculino apresenta concentrações fisiológicas de creatinina superiores ao género feminino, será de esperar que os machos ultrapassem esse limite mais cedo que as fêmeas (Jergens, McCaw & Hewett, 1987). Num estudo conduzido por Green *et al.* (2014), que pretenderam avaliar alguns factores de risco para o desenvolvimento de DRC, os gatos do género masculino orquiectomizados apresentaram mais 30% de probabilidade de virem a ser diagnosticados com DRC, quando comparados com fêmeas ovariectomizadas. Segundo os autores, tal achado pode dever-se a uma maior probabilidade de obstrução uretral dos machos face às fêmeas, com consequente DRC, no entanto tal hipótese não foi constatada na amostra em estudo (Green *et al.*, 2014).

A raça apresenta-se como um potencial factor de risco ao desenvolvimento de DRC. Segundo alguns estudos, as raças Siamês, Abissínio, Persa, Maine Coon (Lulich *et al.*, 1992; Boyd *et al.*, 2008), British shorthair, Birmanês, Somali e Angorá (Ross *et al.*, 2006) encontram-se entre as mais prevalentes com DRC, porém a força de evidência de um risco associado à raça é baixo (Reynolds & Lefebvre, 2013).

1.2. Etiologia

A DRC é um termo inespecífico que não indica a causa da lesão renal e/ou diminuição da função renal. Existem inúmeras causas conhecidas de DRC em gatos, mas na maior parte das vezes não são indentificáveis (Brown, 1998), principalmente quando a doença já se encontra numa fase adiantada, uma vez que à medida que esta progride, as alterações destrutivas impostas pelos mecanismos compensatórios e adaptativos tornam as manifestações de doença renal muito similares e a distinção da etiologia impraticável (Polzin, 2010). As causas de DRC podem ser divididas em dois grupos: congénitas e adquiridas (Reynolds & Lefebvre, 2013).

A doença renal congénita mais comum em gatos é a doença renal poliquística, que no passado afectou até 38% dos gatos da raça Persa e aparentados. Hoje essa prevalência é mais baixa, como resultado de esforços na seleção dos reprodutores (Lees, 2011). Outras doenças renais congénitas são a amiloidose renal do Abissínio, Siamês e Oriental (Lees, 2011), doença glomerular no Abissínio (White, Norris, Bosward, Fleay, Lauer & Malik, 2008) e displasia renal juvenil (Aresu *et al.*, 2009).

As doenças adquiridas são identificadas ou suspeitas em muitos dos casos de DRC felina. Entre elas encontram-se a urolitíase do tracto urinário superior, diagnosticada em 15 (Bailliff *et al.*, 2008) a 29% (Ross *et al.*, 2006) dos gatos com DRC. Contudo é difícil perceber se a

urolitíase é consequência ou causa de DRC. No estudo de Kyles *et al.* (2005) 56% dos gatos com obstrução uretral unilateral apresentava o rim contralateral de dimensões reduzidas, sugerindo uma doença renal pré-existente. As doenças glomerulares primárias são raras e desenvolvem-se na maioria dos casos secundariamente a doenças sistêmicas, nomeadamente neoplásicas (ex: leucemia e linfoma) e doenças inflamatórias, infecciosas ou não (ex: pancreatite, doenças imuno-mediadas) (Vaden, 2011). O linfoma renal, a neoplasia renal primária mais comum, também é uma importante causa de DRC. Já foi diagnosticado *post mortem*, em média, em 16% dos gatos com DRC (DiBartola *et al.*, 1987; Lulich *et al.*, 1992; Minkus, Reusch, Hörauf, Breuer, Darbès, Kraft & Hermanns, 1994; Lawler *et al.*, 2006; White, Norris, Bosward, Lauer, Malik & Canfield, 2007; Chakrabarti, Syme, Brown & Elliott, 2013) e ocorrendo azotemia em 60% dos gatos com linfoma renal (Gabor, Canfield & Malik, 2000).

Algumas endocrinopatias também podem predispor ao aparecimento de DRC. O hipertiroidismo é a doença endócrina mais comum em gatos de idade avançada e pode ser concomitante com a DRC. Com base em vários estudos a prevalência de DRC em gatos com hipertiroidismo varia entre os 14-40% (van Hoek & Daminet, 2009). Também a diabetes mellitus, outra endocrinopatia comum em gatos geriátricos pode surgir associada à DRC (Kirk, 2012) e predispor ao aparecimento desta, contudo a nefropatia diabética não é uma complicação que ocorra com muita frequência nos felídeos (Goossens *et al.*, 1998). A hipercalcemia grave, com mineralização de tecidos moles e/ou desenvolvimento de urólitos de cálcio, pode conduzir a nefrocalcinose e consequentemente a DRC (Kirk, 2012). O hiperaldosteronismo primário ou síndrome de Conn, uma endocrinopatia caracterizada pela secreção excessiva de aldosterona, independente do sistema renina-angiotensina, pela zona glomerulosa das adrenais (Galac, Reusch, Kooistra & Rijnberk, 2010; Djajadiningrat-Laanen *et al.*, 2011; Harvey & Refsal, 2012), também já foi associada ao desenvolvimento de DRC em felídeos (Javadi *et al.*, 2005; Schulman, 2010).

Algumas infecções virais parecem também estar associadas ao desenvolvimento de DRC. Existe evidência de uma eventual ligação entre a infecção pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) (White *et al.*, 2010; Poli, Tozon, Guidi & Pistello, 2012; Baxter, Levy, Edinboro, Vaden & Tompkins, 2012) e pelo vírus da leucemia felina (FeLV) (Glick, Horn & Holscher, 1978) e o desenvolvimento de DRC. Ishida *et al.* (1989) diagnosticaram DRC clínica em 9,3% dos gatos com infecção por FIV e anos mais tarde, Poli *et al.* (2012) associaram a infecção experimental pelo FIV ao aparecimento de lesões renais, semelhantes às verificadas no Homem com HIV (vírus da imunodeficiência humana). Quer no estudo de Poli *et al.* (2012), quer no estudo de Baxter *et al.* (2012) foi encontrada uma associação entre a infecção (experimental e natural, respectivamente) pelo vírus FIV e o aparecimento de proteinúria moderada a grave, tendo sido diagnosticada em 25% (Baxter *et al.*, 2012) e 32,5-

56,5% dos casos (Poli *et al.*, 2012). Porém, o mesmo não se verificou para o aparecimento de azotémia (Poli *et al.*, 2012; Baxter *et al.*, 2012). As infeções pelo vírus da peritonite infecciosa felina (PIF), com envolvimento renal, também podem conduzir ao aparecimento de DRC (Kirk, 2012). Outros factores como a dieta (DiBartola *et al.*, 1993; Hughes *et al.*, 2002; Piyarungsri & Pusoonthornthum, 2016), a infeção por morbilivírus (Woo *et al.*, 2012), a vacinação (Lappin *et al.*, 2005; Lappin, Basaraba & Jense, 2006; Whittemore, Hawley, Jensen & Lappin, 2010; Finch, Syme & Elliott, 2016) e mais recentemente a doença periodontal (Finch *et al.*, 2016) também já foram investigados como factores potencialmente predisponentes do aparecimento de DRC, embora permaneçam ainda pouco fundamentados. Outros eventos chave ao longo da vida de cada indivíduo também podem ser predisponentes [exposição a fármacos nefrotóxicos (ex: aminoglicosídeos, AINE's), episódios de hipoperfusão/hipotensão, urolitíase], porém a sua importância no desenvolvimento de DRC em felídeos é ainda desconhecida (Jepson, 2015).

Recentemente, foi proposta uma participação do envelhecimento normal do animal como factor de risco ao desenvolvimento de DRC em gatos. Evidências de que a inflamação tubulo-intersticial se inicia cedo no curso da vida e aumenta significativamente com a idade (Lawler *et al.*, 2006) têm permitido alimentar a teoria de que as alterações encontradas são parte do processo natural de envelhecimento dos rins nos gatos (Jepson, 2015). Seguindo esta teoria, Quimby *et al.* (2013) demonstraram haver um encurtamento dos telómeros a nível das células epiteliais dos tubos contornados proximais e distais em gatos com DRC comparativamente aos gatos geriátricos e jovens aparentemente saudáveis. Os telómeros representam uma “capa protectora” das terminações cromossómicas, fornecendo estabilidade ao genoma. Vários factores, incluindo actividade insuficiente das telomerasas, o stress oxidativo e as deleções génicas podem contribuir para o encurtamento dos telómeros, que por sua vez resulta em alterações do ADN, interrupção do ciclo celular, apoptose e morte celular. Quando os telómeros atingem uma determinada dimensão após encurtamento, são reconhecidos como ADN lesado, conduzindo a senescência celular, a qual foi encontrada em maior grau nos rins de gatos geriátricos com DRC comparativamente aos gatos saudáveis (Quimby *et al.*, 2013).

No Homem, independentemente da etiologia, a fibrose ou nefrite tubulo-intersticial é reconhecida como o resultado final de todas as doenças renais (Prunotto *et al.*, 2011), sendo a lesão histopatológica melhor relacionada com a função renal, tanto no Homem (Ridson *et al.*, 1968; Nath, 1992), como no Gato (Yabuki *et al.*, 2010; Chakrabarti *et al.*, 2013). No Gato, a nível histopatológico, o diagnóstico mais frequente é também o de nefrite tubulo-intersticial crónica (DiBartola *et al.*, 1987; Lulich *et al.*, 1992; Minkus *et al.*, 1994; Lawler *et al.*, 2006; Ross *et al.*, 2006; White *et al.*, 2007; Ichii *et al.*, 2011; Chakrabarti *et al.*, 2013). Outros achados histopatológicos, menos frequentes, incluem as doenças

glomerulares, o linfoma, a amilóidose, o rim poliquístico, a pielonefrite e a nefrolitíase (Minkus *et al.*, 1994; White *et al.*, 2007).

1.3. Diagnóstico

O diagnóstico de DRC é feito com base na presença simultânea de azotemia (Creatinina >1,6 mg/dL) e diminuição da densidade urinária (DUE <1.035), acompanhado de alterações compatíveis na anamnese e no exame físico (Grauer, 2009; Bartges, 2012).

1.3.1. Apresentação clínica

Os gatos com DRC normalmente surgem à consulta com um quadro clínico inespecífico, embora por vezes sugestivo de doença do foro renal, pelo que o seu diagnóstico definitivo estará sempre dependente da realização de testes laboratoriais e de outros métodos auxiliares de diagnóstico. A obtenção de uma anamnese detalhada é importante para obter informação acerca da cronicidade do processo (Polzin, 2010). Muitos gatos na fase inicial da doença renal são assintomáticos ou apresentam apenas sinais clínicos subtis ou inespecíficos que podem mascarar a doença, levando o proprietário a associar essas alterações à idade e a não dar a devida importância à situação (Ross *et al.*, 2006).

A maioria dos sinais clínicos encontrados é inespecífica e incluem a inapetência, poliúria, polidipsia, perda de peso, letargia, prostração e vômito. Ao exame físico apresentam frequentemente má condição corporal, desidratação, doença periodontal, má condição da pelagem, anemia e alterações dos rins, mostrando-se pequenos e irregulares ou por vezes hipertrofiados, dependendo da etiologia por detrás da DRC (Lulich *et al.*, 1992; DiBartola *et al.*, 1987; Elliott & Barber, 1998; Mayer-Roenne, 2007; King *et al.*, 2006) (Tabela 2 e 3). Eventualmente também podem surgir sinais oculares resultantes de hipertensão sistémica ou lesões de osteodistrofia, como dor óssea ou fracturas de origem desconhecida (Elliott & Watson, 2013).

Tabela 2. Prevalência dos principais sinais recolhidos na anamnese (Lulich *et al.*, 1992; DiBartola *et al.*, 1987; Elliott & Barber, 1998; Mayer-Roenne, 2007; King *et al.*, 2006). (Reynolds & Lefebvre, 2013).

Prevalência	Sinais clínicos
Muito alta (>75%)	Letargia, Anorexia, Polidipsia, Perda de peso
Alta (40-75%)	Prostração, Vômito, Fraqueza, Poliúria
Moderada (10-39%)	Disfagia, Estomatite/Gengivite, Halitose, Obstipação
Baixa (<10%)	Hematúria, Disúria, Diarreia, Sinais neurológicos

Tabela 3. Prevalência dos principais sinais recolhidos no exame físico (Lulich *et al.*, 1992; DiBartola *et al.*, 1987; Elliott & Barber, 1998; Mayer-Roenne, 2007; King *et al.*, 2006). (Reynolds & Lefebvre, 2013).

Prevalência	Sinais clínicos
Alta (40-75%)	Desidratação, Caquexia e Perda de peso.
Moderada (10-39%)	Doença periodontal, Má condição da pelagem, Sopro cardíaco, Renomegália, Rins pequenos e irregulares, Tiróide palpável, Taquicardia, Hipotermia, Taquipneia, Anemia
Baixa (<10%)	Hipertermia, Lesões de fundo do olho.

1.3.2. Métodos auxiliares de diagnóstico

Apesar de não existir um teste de diagnóstico único para a identificação da DRC, existe o consenso em nefrologia humana e veterinária, de que o indicador mais sensível e relevante da função renal é a TGF (Helene & Lefebvre, 2007). A TGF pode ser determinada pela medição da depuração de iohexol, inulina, ou outras substâncias com excreção exclusivamente renal. No entanto, dificuldades técnicas e económicas limitam a sua utilização rotineira, sendo a TGF frequentemente avaliada através da concentração de ureia e creatinina séricas (Chew & DiBartola, 2009). A creatinina, que resulta do metabolismo não enzimático da creatina e fosfocreatina no músculo, tem uma produção relativamente constante e proporcional à massa muscular do animal. Sendo pouco afectada por factores externos, excretada exclusivamente por filtração glomerular e não reabsorvida nos túbulos renais, a creatinina sérica é um melhor indicador da TGF do que a ureia. Regra geral ainda hoje, o diagnóstico da DRC felina é normalmente confirmado através da demonstração da incapacidade de concentração urinária e albumina na urina (microalbuminúria), apesar de insuficiente para ser detetada pelas tiras de urina convencionais (DiBartola, 2004; Elliott & Grauer, 2007). Apesar de em cães e gatos o valor de microalbuminúria ter sido estabelecido entre 10 e 300 µg/ml (DiBartola, 2004, Paeppe & Daminet, 2013), continua em discussão que quantidades são realmente anormais em gatos. Existem já disponíveis no mercado dispositivos de utilização simples na clínica para medição da microalbuminúria em diversas espécies. As suas mais-valias têm sido discutidas uma vez que, além da dificuldade de interpretação do limite inferior de referência, apresentam preços ainda relativamente inacessíveis na prática clínica, e a sua utilização não se tem mostrado vantajosa relativamente ao rácio proteína-creatinina urinária (RPCU) (Syme, Markwell, Pfeiffer & Elliott, 2006; Syme, 2009, Paeppe & Daminet, 2013). A deteção de enzimas na urina como a gama glutamil transferase (GGT) e a N-acetil-beta-D glucosaminidase (NAG), mostraram ser

indicadores sensíveis e precoces de lesão renal tubular. Estas enzimas são demasiado grandes para serem filtradas no glomérulo, pelo que a sua presença na urina é indicativa de lesão renal. A GGT encontra-se no tecido renal, sobretudo na bordadura em escova dos túbulos proximais e a NAG, corresponde a uma enzima predominantemente localizada nos lisossomas das células dos túbulos proximais e intervém no processamento tubular de proteínas (Grauer, 2007). A quantidade desta última enzima na urina, poderá encontrar-se aumentada por um aumento no processamento tubular de proteínas, ou devido a lesão tubular. Vários autores encontraram uma correlação positiva entre a proteinúria e os valores de NAG (Bazzi *et al*, 2002).

Na confirmação do diagnóstico de DRC, pode recorrer-se à utilização de técnicas imagiológicas. A radiografia simples pode confirmar a presença de rins pequenos com contornos por vezes irregulares, embora a observação de rins de tamanho normal não permite excluir a DRC (Grauer, 2000; Chew *et al.*, 2011). A ecografia renal poderá mostrar um córtex renal hiperecogénico com perda de transição corticomedular. No entanto, mesmo em casos de doença avançada, a ecogenicidade renal poderá manter-se (Chew *et al.*, 2011). O aumento da ecogenicidade cortical relaciona-se com a substituição dos nefrónios irreversivelmente danificados, por tecido fibroso (Grauer, 2000). A utilização destes meios complementares de diagnóstico poderá ajudar ainda na identificação ou exclusão de etiologias primárias, como por exemplo o rim poliquístico, pielonefrite ou urolitíase renal (Grauer, 2000; Chew *et al*, 2011). A biópsia renal, apesar de não ser realizada por rotina poderia numa fase precoce da doença ajudar na identificação da etiologia, num diagnóstico histológico e permitir aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos de progressão da doença felina. Naturalmente a sua execução só fará sentido se daí vier alguma mais valia para o doente, nomeadamente se permitir informação que altere a indicação terapêutica no sentido de conseguir travar a progressão da doença e/ou prolongar a qualidade de vida do animal (Polzin *et al*, 2005).

Tabela 4. Lista de exames complementares ao diagnóstico de DRC. Adaptado de Polzin, 2011.

Medição da Pressão Arterial
Testes à função renal
Concentração plasmática de creatinina
Concentração plasmática de ureia
Urianálise (com análise de sedimento)
Quantificação da proteinúria
Rácio PCU
Hemograma
Urocultura
Avaliação dos eletrólitos (sódio, potássio, cloro, magnésio, cálcio e fósforo)
Avaliação do estado ácido-base
Concentração de bicarbonato sérico ou CO₂ total
Concentração plasmática de albumina e globulinas
Radiografias abdominais
Ecografia abdominal

1.3.3. Classificação da DRC

A DRC é classificada pelo método desenvolvido pela IRIS (International Renal Interest Society) e adoptado pelas associações veterinárias americana e europeia de nefrologia e urologia. É o sistema de classificação mais utilizado por clínicos na caracterização da doença e do estado do doente, assim como no estabelecimento de um prognóstico (Polzin, 2013). Esta classificação vai desde o estadio I, que corresponde ao doente não azotémico, até ao estadio IV, que corresponde a azotemia grave (Tabela 4).

Tabela 5. Estadiamento IRIS em função da concentração de creatinina (mg/dL). (IRIS, 2015).

Concentração de Creatinina	
Estadio I	< 1,6 mg/dl
Estadio II	1,6 - 2,8 mg/dl
Estadio III	2,9 - 4,9 mg/dl
Estadio IV	≥ 5,0 mg/dl

O estadiamento segundo o método IRIS é realizado após o diagnóstico de DRC e pretende facilitar a implementação de um tratamento e monitorização adequados, direccionados a cada estadio e auxiliar no fornecimento de um prognóstico para cada indivíduo. Este estadiamento é, numa primeira fase, feito a partir da concentração plasmática de creatinina em jejum, em pelo menos duas ocasiões diferentes espaçadas no tempo e numa segunda fase, a partir da presença de proteinúria, determinada pelo RPCU. Finalmente, é ainda feito

o sub-estadiamento em função dos valores de pressão arterial sistólica (PAS) (Polzin, 2010; Polzin, 2011a; Elliott & Watson, 2013) (Tabela 5 e 6).

Tabela 6. Sub-estadiamento em função dos valores de RPCU. (IRIS, 2015).

Rácio Proteína-Creatinina Urinária	
Não Proteinúrico	< 0,2
Border line	0,2 – 0,4
Proteinúria	> 0,4

Tabela 7. Sub-estadiamento em função dos valores de PAS, com respectivo risco de lesão de órgão alvo atribuído. (IRIS, 2015).

PAS	Sub-estadio	Risco
<150 mmHg	Normotenso	Mínimo
150-159 mmHg	Border line	Baixo
160-179mmHg	Hipertensão	Moderado
>180 mmHg	Hipertensão Grave	Alto

Idealmente, apenas os valores de creatinina obtidos de doentes estabilizados (hidratados e com apetite), preferencialmente após um jejum de alimento mínimo de 12 horas devem ser utilizados para efeito de estadiamento. Antes de se poder proceder ao estadiamento, todas as causas renais e pós-renais necessitam de ser corrigidas a fim de evitar classificar gatos em estadios mais avançados, com um pior prognóstico (Boyd *et al.*, 2008; IRIS, 2015). Para o sub-estadiamento com base na proteinúria, consideram-se “proteinúricos” apenas aqueles com proteinúria persistente, verificada em pelo menos duas medições de RPCU consecutivas, num intervalo mínimo de 15 dias (RPCU>0,4) e após exclusão de outras causas de proteinúria, de origem extra-renal. O sub-estadiamento pela pressão arterial reflecte o risco de lesões de órgão alvo, particularmente a nível dos olhos, sistema nervoso central, rins e coração. Este sub-estadiamento deve ser feito com pelo menos 2 a 3 medições, espaçadas ao longo de várias semanas e com o cuidado de evitar um eventual “efeito de bata branca” (Brown *et al.*, 2007; Polzin, 2010; Polzin, 2011; IRIS, 2015). Para isso existe um conjunto de indicações propostas, inicialmente pelo colégio americano de

medicina interna veterinária (ACVIM – *American College of Veterinary Internal Medicine*) e mais recentemente pela sociedade internacional de medicina felina (ISFM – *International Society of Feline Medicine*), com o objectivo de orientar os profissionais médico-veterinários durante a organização e realização de sessões de medição de pressão arterial de forma a obter valores de pressão arterial o mais uniformes e próximos da realidade.

Os valores de pressão arterial considerados para o sub-estadiamento deverão ser os valores mais baixos e repetíveis obtidos. Infelizmente os actuais dispositivos de medição de pressão arterial (métodos indirectos) concebidos para a prática veterinária em clínica de pequenos animais ainda não foram validados segundo as normas propostas pelo painel de consenso veterinário para a pressão arterial do ACVIM. Até lá aconselham os profissionais a continuar a utilizar tais dispositivos, desde que reproduzam resultados próximos do expectável. É aconselhado que aquando a chegada à clínica, o animal deva deslocar-se de imediato até a uma sala de consulta, de forma a reduzir a exposição a potenciais factores de stress que possam provocar elevações temporárias da pressão arterial. Aí, deverá aguardar por um período mínimo de 5-10 minutos, tempo suficiente para se aclimatizar ao ambiente circundante e reduzir um eventual “efeito bata branca”. O profissional médico-veterinário responsável pelas medições deverá ser alguém com experiência neste tipo de procedimentos e realizar um mínimo de 5 leituras, com o mínimo de contenção possível do animal. É importante que a medição de pressão arterial seja o primeiro procedimento a ser realizado após a chegada à consulta e só depois realizar o exame físico e outros complementares necessários (Brown *et al.*, 2007).

1.4. Fisiopatologia

1.4.1. Fibrose Renal

Como referido anteriormente, a fibrose tubulo-intersticial apresenta-se como o resultado final mais comum na DRC felina (DiBartola *et al.*, 1987; Lulich *et al.*, 1992; Minkus *et al.*, 1994; Lawler *et al.*, 2006; Ross *et al.*, 2006; White *et al.*, 2007; Ichii *et al.*, 2011; Chakrabarti *et al.*, 2013). Embora a maioria das causas de lesão renal nos gatos permaneçam desconhecidas, considera-se que o processo seja semelhante ao descrito para outras espécies (Liu, 2011). O processo de fibrose renal inicia-se geralmente com áreas focais de inflamação secundárias a uma lesão inicial e subsequente activação de células mesenquimatosas com criação e expansão de áreas de fibrose e cicatrização (Prunotto *et al.*, 2011). Após a lesão, o recrutamento de fibroblastos activados, designados miofibroblastos, constitui uma resposta benéfica e é parte normal do mecanismo de reparação. Contudo, na DRC ocorre uma resposta excessiva, conduzindo à continuação dos mecanismos que promovem a fibrose renal (Liu, 2006; Wynn, 2010; Kramann *et al.*, 2013). Há quatro tipos principais de células importantes para a génese da fibrose renal: os miofibroblastos, responsáveis pela

acumulação de matriz extracelular (MEC), as células inflamatórias como os macrófagos, as células do endotélio microvascular e as células epiteliais tubulares (Eddy, 2014). A origem dos miofibroblastos tem sido fonte de grande controvérsia. Porém, estudos mais recentes apontam como fonte primária de miofibroblastos sobretudo os fibroblastos renais e os perícitos microvasculares, que passam por um processo de transformação. Outras fontes menos importantes, particularmente em estádios mais avançados da doença renal, incluem fibrócitos da medula óssea e células renais locais, incluindo células epiteliais tubulares e endoteliais (Kramann *et al.*, 2013; Eddy, 2014). Os miofibroblastos apresentam características tanto de fibroblastos como de células musculares lisas. Um dos factores chave na identificação é a sua expressão de α -actina e vimentina, não encontrados em fibroblastos normais. A diferenciação de fibroblastos e perícitos em miofibroblastos pode ser activado por um grande número de mecanismos de sinalização celular, incluindo os factores de crescimento PDGF [Factor de crescimento derivado das plaquetas (*Platelet Derived Growth Factor*)], VEGF [Factor de crescimento de endotélio vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*)], TGF- β [Factor transformador de crescimento (*Transforming Growth Factor*)], CTGF [Factor de crescimento de tecido conjuntivo (*Connective Tissue Growth Factor*)] e as vias de sinalização Wnt/ β -catenina, e Hedgehog (Kramann *et al.*, 2013).

A citoquina TGF- β é possivelmente o mais importante mediador profibrótico responsável pela activação de miofibroblastos (Liu, 2006; Farris & Colvin, 2012), e do qual são conhecidas 3 isoformas (TGF- β 1, TGF- β 2; TGF- β 3). O TGF- β 1 é a mais comum e é sintetizada por todos os tipos de células do rim, sendo as células epiteliais a principal fonte conforme demonstrado em estudos de doença renal experimentalmente induzida (Fukuda *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2013). A sua produção encontra-se aumentada por uma variedade de estímulos, incluindo a activação do sistema renina-angiotensina aldosterona (SRAA) (Wolf, 2006), a hipóxia (Orphanides *et al.*, 1997), a proteinúria (Eddy & Giachelli, 1995) e o stress oxidativo (Shin *et al.*, 2008).

A sobre-activação do SRAA é um mecanismo de lesão renal progressiva, não só por do via aumento da pressão glomerular e subsquente filtração de proteína plasmática, como também pelos efeitos fibroproliferativos dos seus componentes. Pensa-se que a angiotensina II, o produto activo primário do SRAA, seja a via mais importante de sobre-regulação da sinalização do TGF- β e transcrição de genes pro-inflamatórios (Ruster & Wolf, 2011). Tal como o TGF- β , a angiotensina II também tem capacidade de induzir uma série de outros mediadores pro-inflamatórios e profibróticos, incluindo o CTGF e a endotelina (ET-1) (Yokoi *et al.*, 2001; Wolf *et al.*, 2002). A aldosterona e a renina também estão implicadas na fibrogénese ao aumentar, respectivamente, a expressão e produção de TGF- β (Sun *et al.*, 2000; Juknevičius *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2006). A aldosterona tem ainda efeitos independentes da TGF- β , via estimulação da produção de CTGF (Han *et al.*, 2006).

As células inflamatórias, nomeadamente os macrófagos, também podem desempenhar um papel importante na inflamação, reparação tecidular e fibrose. Algumas subpopulações de macrófagos podem ser responsáveis pela produção de determinados mediadores de inflamação, como por exemplo a interleucina IL-1 β , o TNF- α [Factor de necrose tumoral (*Tumor Necrosis Factor*)], o MCP-1 [Proteína quimioatractiva de monócitos (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*)], que promovem a inflamação e a produção de TGF- β e PDGF, os quais conduzem à activação de miofibroblastos (Kramann *et al.*, 2013). As células epiteliais tubulares apresentam um papel variável na fibrose renal. Cedo no curso da doença renal, as células epiteliais tubulares danificadas podem ser fonte de mediadores inflamatórios, citocinas, factores de crescimento TGF- β , PDGF, FGF [Factor de crescimento fibroblástico (*Fibroblast Growth Factor*)] e radicais livres de oxigénio (RLO), excretados por via paracelular ou pela membrana basolateral para o interstício tubular (Eddy, 2014). Neste compartimento tais mediadores inflamatórios podem promover inflamação e activação, transformação e proliferação de miofibroblastos. Numa fase mais adiantada da doença, a falta de regeneração e a perda de células epiteliais tubulares pode contribuir para a progressão da doença e perda de mais nefrónios. Os perícitos são importantes para a estabilização das células endoteliais da rede capilar peritubular. O seu destacamento e transformação em miofibroblastos pode conduzir à instabilidade e rarefação da rede capilar (Kramann *et al.*, 2013), contribuindo para o desenvolvimento de hipóxia e stress oxidativo e consequente lesão celular tubular e fibrose (Eddy, 2014; Mimura & Nangaku, 2010). Apenas dois estudos avaliaram a presença de miofibroblastos em rins de felídeos. No estudo de Sawashima *et al.* (2000) verificou-se que o índice de α -actina era significativamente maior em gatos com nefrite tubulo-intersticial, em particular nas regiões periglomerulares e peritubulares, do que em gatos sem evidência de DRC e que se encontrava significativamente correlacionado com a deposição de fibronectina e a concentração de creatinina. Mais recentemente, um outro estudo demonstrou associações semelhantes entre a α -actina, expressão tubular de vimentina, fibrose e a concentração de creatinina (Yabuki *et al.*, 2010). No que respeita a mediadores inflamatórios, Arata *et al.* (2005) e mais recentemente Habenicht, Webb, Clauss, Dow & Quimby (2013), avaliaram as concentrações urinárias de TGF- β 1 em gatos com DRC. Em ambos os estudos, verificaram-se rácios de TGF- β 1/creatinina urinária significativamente mais elevados em gatos com DRC quando comparados com o grupo de gatos saudáveis (Arata *et al.*, 2005; Habenicht *et al.*, 2013). No estudo de Habenicht *et al.* (2013) investigaram ainda as concentrações de IL-8, MCP-1 e VEGF e respectivos rácios com creatinina urinária, como potenciais marcadores de lesão e inflamação renal. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no rácio de MCP-1/creatinina urinária, mas o mesmo não se passou com o rácio IL-8/creatinina urinária, o qual se mostrou significativamente mais elevado no grupo de

gatos com DRC do que no grupo controlo. Quanto ao rácio VEGF/creatinina urinária existe informação contraditória (Jepson, 2015). Enquanto o estudo de Habenicht *et al.* (2013) demonstrou haver valores significativamente inferiores deste rácio em gatos com DRC quando comparados com gatos saudáveis, Chakrabarti *et al.* (2013), que o examinaram enquanto marcador de hipóxia renal, identificaram uma associação positiva e significativa com a progressão da azotémia e diminuição do tempo de sobrevivência. Um pequeno contratempo dos três estudos supracitados é que a histopatologia não se encontrou disponível, pelo que não foi possível relacionar o valor dos rácios efectuados com a magnitude da inflamação e fibrose renal (Jepson, 2015); contudo, noutras espécies existem estudos a suportar uma forte correlação entre os níveis de citocinas inflamatórias e a inflamação renal (Bobkova, Chebotareva, Kozlovskaja, Varshavskii & Golitsyna, 2006).

A transglutaminase 2 (TG-2) foi recentemente investigada em gatos. Trata-se de uma enzima de *cross-linking* dependente de cálcio, da família das transglutaminases e que desempenha um papel importante na estabilização da matriz extracelular, promovendo a deposição de matriz extracelular e a sua resistência à degradação. A TG-2 também tem capacidade de promover o *cross-link* do TGF- β com a matriz extracelular e contribuir para a fibrose por activação do TGF- β (Sanchez-Lara, Elliott, Syme, Brown & Haylor, 2015). Existe uma forte relação entre a expressão de TG-2 e fibrose renal no Homem e em modelos roedores (Johnson *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 2003). Este dado foi recentemente extrapolado para o gato, onde a sua actividade se encontrou positivamente correlacionada com a histopatologia renal e concentrações plasmáticas de creatinina, ureia e fósforo (Sanchez-Lara *et al.*, 2015).

1.4.2. Progressão da DRC felina

A progressão é definida como o resultado da perpetuação de um ciclo vicioso, sendo atribuído a alterações funcionais e estruturais dos nefrónios remanescentes após a lesão renal. Os mecanismos de adaptação hemodinâmica decorrentes da perda de nefrónios acabam por resultar no desenvolvimento de hipertrofia glomerular, hipertensão e hiperfiltração de forma a manter a TFG individual de cada nefrónio remanescente (Brenner, 1985; Hostetter, Olsen, Rennke, Venkatachalam & Brenner, 1981). Apesar dos benefícios iniciais na manutenção da TFG, em última instância conduzem à perda de mais nefrónios e à progressão da doença renal (Jepson, 2015). Tal ocorrência foi demonstrada experimentalmente em gatos por Brown & Brown (1995), em modelos de ablação renal. Devido à grande capacidade de reserva dos rins, tem de ser perdida em média pelo menos 75% da função renal até que a azotémia seja laboratorialmente detectada (Brown, Crowell, Brown, Barsanti & Finco, 1997). Em gatos, a TFG permanece estável durante períodos que podem ir até 1 ano após a indução experimental de DRC (Ross, Finco & Crowell, 1982; Adams, Polzin, Osborne, O'Brien & Hostetter, 1994; Finco *et al.*, 1998), mostrando um curso

de doença imprevisível, com períodos extensos de função renal estável, antes da descompensação (Polzin, 2011a; Elliott *et al.*, 2000; Elliott, Syme & Markwell, 2003; Chakrabarti, Syme & Elliott, 2012). Num estudo de Chakrabarti *et al.* (2012), 81% e 37% dos gatos em estadio IRIS II e III, respectivamente, não progrediram para o estadio IV, antes da morte. Em média, apresentam uma esperança média de vida de 490 – 1151 dias no estadio I; 154 - 778 dias no estadio II e de apenas 20 - 103 dias quando são diagnosticados em estadio IV (Syme *et al.*, 2006; Boyd *et al.*, 2008; Geddes, Elliott & Syme, 2015).

1.4.2.1. Factores de risco para a progressão da DRC

O mecanismo por detrás das alterações fibróticas contínuas e progressivas na DRC ainda não é totalmente compreendido. Pensa-se que as condições intra-renais sejam significativamente profibróticas, conduzindo à contínua produção de citocinas pro-inflamatórias e profibróticas e à perpetuação da resposta de cicatrização tecidual em alternativa à sua resolução (Reynolds & Lefebvre, 2013). Vários factores, que afectam o tempo de sobrevivência e progressão da DRC em gatos, já foram avaliados em vários estudos anteriores. As concentrações plasmáticas elevadas de creatinina (Syme *et al.*, 2006; King *et al.*, 2007; Chakrabarti *et al.*, 2012), fósforo (Boyd *et al.*, 2008; King *et al.*, 2007; Chakrabarti *et al.*, 2012) e ureia (King *et al.*, 2007; Chakrabarti *et al.*, 2012), a proteinúria (Syme *et al.*, 2006; King *et al.*, 2007; Chakrabarti *et al.*, 2012), a anemia (Syme *et al.*, 2006; King *et al.*, 2007; Chakrabarti *et al.*, 2012), a leucocitose (King *et al.*, 2007) e mais recentemente, o FGF-23, uma fosfatona envolvida na regulação do metabolismo do fósforo e vitamina D (Geddes *et al.*, 2015), encontram-se associados a um menor tempo de sobrevivência em gatos com DRC. Contudo até à data não existe nenhum parâmetro individual verdadeiramente eficaz na previsão do tempo de sobrevivência de gatos com DRC (King *et al.*, 2007; Chakrabarti *et al.*, 2012).

A condição corporal (CC) baixa, a perda de peso e a perda de massa muscular são alterações comuns em gatos com DRC. Freeman, Lachaud, Matthews, Rdes & Zollers (2015) realizaram um estudo retrospectivo onde avaliaram a evolução do peso em gatos antes e após o diagnóstico de DRC e sua relação com prognóstico. Um total de 569 gatos com idade média de 15 anos, em que 61% dos animais se encontrava em estadio IRIS II, o peso médio ao diagnóstico foi de 4,2 kg. Os mesmos gatos perderam uma média de 8,9% do seu peso corporal no período de 12 meses anterior ao diagnóstico, com estas perdas a terem início até 3 anos antes e a acelerarem após o diagnóstico.

1.4.2.1.1. Proteinúria

Segundo a “teoria da hiperfiltração”, a TFG individual de cada nefrónio aumenta em proporção com a quantidade de tecido renal funcional perdido, com consequente aumento da filtração glomerular de proteínas plasmáticas. Estas são responsáveis pelo aparecimento de lesões glomerulares e tubulares, que por sua vez levam a mais fibrose renal e à criação de um ciclo vicioso (Hostetter *et al.*, 1981). Pensa-se que o excesso de proteína no filtrado glomerular possa ter uma toxicidade renal intrínseca, devido à sua maior reabsorção pelas células epiteliais tubulares proximais, conduzindo à acumulação de quantidades anormais de proteína no interstício. Em modelos de doença renal induzida experimentalmente, esta proteinúria encontra-se associada a apoptose de células epiteliais dos túbulos contornados proximais (Tejera *et al.*, 2004), as quais, em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* expressam nestas condições genes de mediadores pro-inflamatórios e pro-fibróticos (Eddy & Giachelli, 1995; Zoja *et al.*, 1999; Nakajima *et al.*, 2002), incluindo o TGF- β 1 e o MCP-1 (Abbate *et al.*, 2002; Eddy, 2004; Perico *et al.*, 2005). Estes factores levam à infiltração de leucócitos a nível tubular e ao desenvolvimento de inflamação crónica (Abbate *et al.*, 1998). Pensa-se que a proteinúria também possa estar implicada na transformação de células epiteliais tubulares em miofibroblastos, contribuindo assim directamente para o aumento de células produtoras de MEC que ocorre na DRC (Abbate *et al.*, 2002).

A proteinúria encontra-se associada a fibrose tubulo-intersticial e a hipertrofia glomerular e pode desta forma servir como um marcador de disfunção tubular associada a fibrose tubulo-intersticial (Chakrabarti *et al.*, 2012). Em gatos com DRC é geralmente ligeira quando comparada com o homem (White *et al.*, 2006; Syme *et al.*, 2006; King *et al.*, 2007), com 90% e 49% dos gatos com DRC a ter RPCU <1,0 e 0,25 respectivamente (Syme *et al.*, 2006). Tal diferença é explicada com o facto de a proteinúria nos gatos ser maioritariamente de origem tubular (Harley & Langston, 2012). No entanto, a gravidade da proteinúria apresenta valor de prognóstico quanto ao tempo de sobrevivência (Syme *et al.*, 2006; King *et al.*, 2007), de tal forma que, apesar de ligeira, recomenda-se a intervenção terapêutica aquando o RPCU >0,4 em gatos com DRC azotémica (Lees, Brown, Elliott, Grauer & Vaden, 2005). A proteinúria é um sinal de lesão renal e um indicador forte da progressão da doença renal (Lees *et al.*, 2005; Syme *et al.*, 2006; Syme, 2009). Contudo, permanece ainda por esclarecer se nos gatos a proteinúria contribui para a progressão da DRC, ou apenas os gatos proteinúricos apresentam uma progressão mais rápida, tratando-se a proteinúria somente de um marcador de prognóstico (Elliott & Syme, 2006; Syme, 2009). A dúvida levanta-se em parte devido à incapacidade de os tratamentos anti-proteinúricos em prolongar significativamente o tempo de sobrevivência (King *et al.*, 2007). No estudo realizado por McLeland, Cianciolo, Duncan & Quimby (2015), no qual foram comparadas as alterações histopatológicas com os parâmetros bioquímicos, utilizando para o efeito uma amostra de 46 felídeos com DRC,

classificados nos 4 estadios diferentes, a proteinúria encontrou-se relacionada com a gravidade da degeneração celular a nível do epitélio tubular, inflamação e fibrose renal. Neste estudo verificou-se que a proteinúria foi mais comum nos estadios finais (III e IV), apresentando estes também uma maior gravidade e irreversibilidade das lesões. Perante estas evidências, estes autores aconselham que a abordagem terapêutica da proteinúria se deve iniciar em estadios mais iniciais da DRC (McLeland *et al.*, 2015).

1.4.2.1.2. Inflamação renal

A inflamação renal crónica também desempenha um papel importante na fisiopatologia da DRC e na perpetuação da fibrose renal (Rodriguez-Iturbe & Garcia, 2010). Independentemente da causa inicial, a infiltração tubulo-intersticial por linfócitos e macrófagos pode ser induzida por proteinúria, geração de RLO e produção aumentada de angiotensina II (Rodriguez-Iturbe *et al.*, 2001). A inflamação crónica sustenta a produção de factores de crescimento pro-fibróticos e quimiocinas a partir de células epiteliais e endoteliais activadas e leucócitos infiltrados. Acredita-se que os linfócitos T modulem a activação de miofibroblastos, via acção directa em fibroblastos residentes ou induzindo macrófagos e/ou células tubulares a produzir factores de crescimento e citocinas pro-fibróticas (Nikolic-Paterson, 2010). As células inflamatórias são ainda capazes de elas próprias se diferenciarem em miofibroblastos e assim contribuir directamente para a acumulação de matriz extracelular por esta via (Jabs *et al.*, 2005). Nos gatos a fibrose tubulo-intersticial encontra-se associada à infiltração de linfócitos e plasmócitos (DiBartola *et al.*, 1987) e num estudo mais recente, foi encontrada uma correlação moderada entre o grau de inflamação e fibrose tubulo-intersticial na DRC felina (Chakrabarti *et al.*, 2013). A citocina IL-8, um factor quimiotáctico de neutrófilos, o qual é libertado por leucócitos e células endoteliais em resposta à inflamação, foi encontrado em concentrações elevadas na urina de gatos com DRC (Habenicht *et al.*, 2013).

1.4.2.1.3. Hipóxia renal

O córtex renal dispõe de maior perfusão que o interstício medular, no entanto as células epiteliais tubulares são especialmente vulneráveis à lesão hipóxica devido à sua maior taxa metabólica e dependência do metabolismo aeróbio (Epstein, 1997). Na DRC uma série de factores conduz ao desenvolvimento de um estado de hipóxia. O consumo de oxigénio dos nefrónios remanescentes é até 3 vezes superior ao habitualmente necessário pelo nefrónio normal, devido ao maior metabolismo das células epiteliais tubulares (Harris *et al.*, 1988).

As células tubulares quando expostas a hipóxia, ainda que ligeira, sofrem transformação em miofibroblastos (Xie *et al.*, 2001; Zell *et al.*, 2013) e em condições de hipóxia grave, podem mesmo sofrer apoptose (Kahn *et al.*, 1999). A hipóxia tem também efeitos directos sobre os fibroblastos renais, com aumento de produção de matriz extracelular, diminuição do *turnover*

da matriz extracelular e produção de mediadores pró-fibróticos (Norman *et al.*, 2000). A hipóxia pode ainda actuar como um estímulo à produção de uma resposta inflamatória, por via do recrutamento de células inflamatórias (Kong *et al.*, 2004). A hipóxia induz a formação do factor HIF [Factor induzido por hipóxia (*Hypoxia induced factor*)], o qual promove a expressão de genes como os do VEGF de modo a tentar promover angiogénese e melhorar o aporte de oxigénio (Kawakami *et al.*, 2014). Em gatos, concentrações elevadas de VEGF urinário, um marcador de hipóxia tecidular, foram associadas a um menor tempo de sobrevivência e progressão da azotémia, sugerindo que hipóxia renal se encontra associada à progressão da DRC felina (Chakrabarti *et al.*, 2012b). Contudo, num outro estudo igualmente recente, os níveis urinários de VEGF foram significativamente mais baixos em gatos com DRC do que em gatos saudáveis, pelo que o significado deste marcador e o seu papel na hipóxia renal permanece ainda por esclarecer (Habenicht *et al.*, 2013).

1.4.2.1.4. Stress oxidativo

O stress oxidativo é definido como sendo “um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, a favor dos oxidantes, que potencialmente pode induzir lesão” (Sies, 1991). O stress oxidativo ocorre quando a formação de RLO excede a capacidade de o organismo os metabolizar, quando há uma diminuição das defesas antioxidantes, ou quando ambas as situações ocorrem (McMichael, 2007; Rubattu *et al.*, 2013). Os RLO são produtos do metabolismo celular aeróbio, entre os quais se destacam o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o anião superóxido (O_2^-) e os radicais hidroxilo (OH^\cdot) (Aydin, Bulbul, Avci & Celik, 2009; Winter *et al.*, 2009). Em concentrações baixas ou moderadas, os RLO podem ser benéficos para a célula ao estarem envolvidos em vários processos fisiológicos, desde processos de sinalização e regulação celular até à transmissão de mensagens intracelulares, na proliferação, na apoptose e na defesa contra microrganismos (Matés & Sánchez-Jiménez, 1999; Plavec *et al.*, 2008), a processos de diferenciação e deteção do crescimento celular (Plavec *et al.*, 2008), participando no controlo da pressão arterial, no desenvolvimento embrionário e na biossíntese de outras moléculas (Kohen & Nyska, 2002). Porém quando em excesso têm também a capacidade de induzir alterações metabólicas ou lesões de macromoléculas biológicas como os ácidos nucleicos, os lípidos membranares, os glúcidos e as proteínas (Matés & Sánchez-Jiménez, 1999; Plavec *et al.*, 2008; Khanna *et al.*, 2012). Estas alterações podem resultar em degeneração e morte celular, por apoptose ou necrose (Gueteens *et al.*, 2002) e desempenham um papel importante na inflamação e patogénese de várias doenças no Homem, como nas doenças cardiovasculares (ex:aterosclerose), doenças neurodegenerativas (Parkinson e Alzheimer), doenças respiratórias, doenças auto-imunes (ex:artrite reumatóide), doenças renais, hepáticas e neoplásicas, na doença inflamatória intestinal (IBD), na síndrome da imunodeficiência adquirida pelo HIV e na diabetes mellitus (Galli *et al.*, 2005). Também em medicina veterinária o stress oxidativo tem

sido documentado em várias situações de doença como na doença cardíaca (Prasad, Krueger & Krueger, 2014; Freeman, Brown & Rush, 1999; Freeman, Rush, Milbury & Blumberg, 2005), na dilatação e volvo gástrico (Walker *et al.*, 2007), na doença renal crónica (Yu & Paetau-Robinson, 2006; Keegan & Webb, 2010; Zel, Tozon & Svete, 2014), na imunodeficiência felina (Webb *et al.*, 2008); na diabetes mellitus (Webb & Falkowski, 2009), na peritonite infecciosa felina (PIF) (Tecles *et al.*, 2015), na obesidade (Tanner, Martin & Saker, 2007; Tvarijonaviciute *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2015), e em várias neoplasias caninas, como os linfomas (Vajdovich *et al.*, 2005; Winter *et al.*, 2009; Macotpet *et al.*, 2013; Bottari *et al.*, 2015) e os tumores mamários (Szczubial *et al.*, 2004; Kumaraguruparan, Balachandran, Manohar & Nagini, 2005; Karayannopoulou *et al.*, 2013; Macotpet *et al.*, 2013; Machado *et al.*, 2015).

1.4.2.1.4.1. Radicais livres

Os radicais livres são espécies com um ou mais electrões desemparelhados. Podem ser encontrados na natureza, associados a átomos de carbono, enxofre, azoto e oxigénio. Todavia, os RLO são os que possuem maior relevância biológica pela sua toxicidade e são também os mais prevalentes nos organismos vivos que utilizam o oxigénio como comburente (Kohen & Nyska, 2002). A actividade da cadeia respiratória mitocondrial é responsável pela maior parte da produção de RLO em aerobiose. Estima-se que 90% a 95% do oxigénio na mitocôndria seja convertido em água (H₂O) e que os restantes 5% a 10% sejam reduzidos, originando os RLO (Bulteau, Szweda & Friguet, 2006). Outras fontes endógenas de RLO incluem o citocromo P450, os peroxisomas, as lipoxigenases (LOX), as cicloxigenases (COX), a xantina oxidase, a NADPH oxidase (Curtin, Donovan & Cotter, 2002) e células inflamatórias (neutrófilos, macrófagos e eosinófilos). As fontes exógenas de RLO incluem a radiação ionizante, alguns fármacos (sobretudo os quimioterápicos), o fumo de tabaco e o ozono (McMichael, 2007).

Os radicais livres podem ser agrupados em radicalares e não radicalares. Os radicalares são capazes de existência independente e são altamente reactivos, podendo reagir entre si para formar uma molécula estável (Kohen & Nyska, 2005; Uttara, 2009) (Tabela 8).

Os radicais livres com maior frequência e toxicidade para os sistemas biológicos são o radical ião superóxido, o radical hidróxilo, o radical hidroperóxilo (HOO[•]) e o radical monóxido de azoto (NO[•]). O anião superóxido é o primeiro e o principal radical gerado *in vivo*, por redução univalente do oxigénio molecular (Vannuchi *et al.*, 1998; McKee, 1999; Wink, 2000). Outros radicais livres tóxicos podem formar-se, com destaque para o peróxido de hidrogénio, o radical de azoto peroxinitrito (ONOO[•]), os radicais peróxilo (ROO[•]), alcóxilo (RO[•]), carbonato (CO₃^{•-}) e os radicais de enxofre (RS[•]). O peróxido de hidrogénio não é um radical, mas pode reagir com metais de transição (ex: Fe, Cu, Co ou Ni) pelas reações de

Fenton, ou com o anião superóxido, via reação Haber-Weiss, originado o radical hidroxilo, um poderoso oxidante (Sonntag, 1987; Finkel & Holbrook, 2000; Kehrer, 2000; Veselá & Wilhelm 2003). A toxicidade dos RLO está associada à sua elevada reactividade com componentes celulares como as proteínas, o ADN e os lípidos, provocando lesões oxidativas (Sonntag, 1987; Finkel & Holbrook, 2000; Kehrer, 2000; Veselá & Wilhelm, 2003).

Tabela 8. Classificação dos RLO em radiculares e não radiculares. Adaptado de Kohen & Nyska, 2005.

Radiculares		Derivados não radiculares	
Oxigénio (bi-radical)	$O_2^{\cdot\cdot}$	Peróxido de hidrogénio	H_2O_2
Anião superóxido	$O_2^{\cdot-}$	Ácido hipoclorídico	HOCL
Hidroxilo	OH^{\cdot}	Ozono	O_3
Peróxido	ROO^{\cdot}	Aldeídos	HCOR
Alcóxido	RO^{\cdot}	Oxigénio Singleto	1O_2
Monóxido de azoto*	NO^{\cdot}	Peroxinitrito*	$ONOO^{\cdot-}$

*Radical livre de azoto (RLA)

1.4.2.1.4.2. Antioxidantes

Os mamíferos desenvolveram estratégias antioxidantes complexas no interior das células, nas membranas celulares e nos fluídos extracelulares, através da eliminação dos RLO excessivos de forma a impedir a ocorrência de stress oxidativo (Matés & Sánchez-Jiménez, 1999; Plavec *et al.*, 2008). Este sistema de antioxidantes naturais pode ser agrupado em três categorias: os antioxidantes proteicos enzimáticos, os não enzimáticos e os de baixo peso molecular [Low Molecule Weight Antioxidants (LMWA)] (Halliwell, 1999). Os antioxidantes enzimáticos incluem um número limitado de proteínas como a catalase (CAT), a glutathione peroxidase (GPH-Px) e a superóxido dismutase (SOD). Já os antioxidantes não enzimáticos, abundantes no plasma, incluem compostos como a albumina, haptoglobulina, ferritina e ceruloplasmina. Os antioxidantes de baixo peso molecular podem ainda ser subdivididos em duas categorias: os lipossolúveis e os hidrossolúveis. Os hidrossolúveis incluem o ácido ascórbico (vitamina C), ácido úrico, bilirrubina, glutathione reductase (GSH), zinco e selénio. Já os lipossolúveis incluem os tocoferóis [α -tocoferol (vitamina E)], os carotenóides, os flavenóides, a ubiquinol-10 (Coenzima Q10) e os licopenos (Halliwell, 1999; Uttara, 2009).

1.4.2.1.4.3. Influência da idade no stress oxidativo

O envelhecimento prejudica as funções orgânicas por acumulação de lesões moleculares no ADN, nas proteínas e nos lípidos (Reuter *et al.*, 2010) e também devido a um aumento do stress oxidativo intracelular. Este deve-se não só a um aumento da produção mitocondrial de RLO, como também a uma diminuição da concentração mitocondrial de antioxidantes, ambos com o avançar da idade, tendo como resultado a lesão oxidativa do ADN mitocondrial. O ADN mitocondrial danificado conduz a uma diminuição do transporte de electrões e maior produção de RLO a partir da cadeia respiratória, originando um ciclo vicioso de destruição (Wei, 1998). Kohen & Nyska (2002) confirmaram um aumento do stress oxidativo em animais mais velhos, baseados na medição total dos LMWA nos tecidos, sendo que neste estudo apenas o tecido cerebral e a pele não apresentaram quaisquer alterações.

1.4.2.1.4.4. Métodos de determinação do stress oxidativo

O stress oxidativo pode ser determinado pelos seguintes métodos: determinação do estado *redox*; quantificação dos radicais livres, quer directamente por espectroscopia de ressonância paramagnética electrónica, por hidroxilação do ácido salicílico, do ensaio da desoxirribose e do ensaio de redução do citocromo C, quer indirectamente através de marcadores imunohistoquímicos para determinação da lesão no ADN, da peroxidação lipídica e da lesão proteica; quantificação dos marcadores de lesão oxidativa pelos métodos indirectos acima descritos; quantificação do sistema defensor antioxidante por avaliação das enzimas antioxidantes, através de marcadores imunohistoquímicos e ainda por avaliação da actividade antioxidante total (Kohen & Nyska, 2002). O stress oxidativo pode ainda ser avaliado pela determinação de substâncias reactivas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS – *Thiobarbituric acid reactive substances*) e dienos conjugados (Plavec *et al.*, 2008).

A capacidade antioxidante (Miller, Rice-Evans, Davies, Gopinathan & Milner, 1993), actividade antioxidante (Koracevic, Koracevic, Djordjevic, Andrejevic & Cosic, 2001), poder antioxidante (Benzie & Strain, 1996; Benzie & Strain, 1999), ou estado antioxidante (Rice-Evans & Miller, 1994) são todas elas definições para um parâmetro que quantifica a capacidade de um composto agir sobre radicais livres e inactivá-los (Karadag, Ozcelik & Saner, 2009). Este parâmetro considera o efeito cumulativo de todos os antioxidantes presentes no sangue (Nagy *et al.*, 2006) e fornece um índice integrado do estado oxidativo (Ghiselli *et al.*, 2000). Com base nas reações químicas envolvidas a maioria dos ensaios relativos à capacidade antioxidante podem ser classificados em duas categorias: 1) Os ensaios em que têm por base a transferência de átomos de hidrogénio (TAH) - estes ensaios, geralmente são constituídos por um gerador de radical livre sintético, um marcador oxidável e um antioxidante; é um método que avalia a capacidade de um antioxidante

eliminar os radicais livres pela cedência de hidrogénio. Os ensaios TAH incluem métodos como o ORAC (capacidade de absorção do radical oxigénio – *Oxygen radical absorbance capacity*), o TRAP (parâmetro antioxidante de radicais totais - *Total reactive antioxidant power*), o método TBARS e o método de Folin-Ciocalteu ou ensaio da determinação dos fenóis totais; 2) Os ensaios com base na transferência de electrões (TE) - os ensaios baseados na transferência de electrões avaliam a capacidade de um antioxidante para reduzir um oxidante, que muda de cor quando reduzido. Os ensaios de TE incluem métodos como o TEAC (capacidade antioxidante em equivalentes de trolox – *Trolox equivalent antioxidant capacity*), o FRAP (poder antioxidante por redução do ião férrico – *Ferric reducing ability of plasma*), o CUPRAC (*Cupric reducing antioxidant capacity*), o DPPH (captação do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) (Huang *et al.*, 2005; MacDonald-Wicks *et al.*, 2006; Karadag *et al.*, 2009) e ainda os métodos baseados na oxidação do ABTS [ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] (Erel, 2004).

A utilização do TAC enquanto marcador de stress oxidativo é frequentemente criticada (Azzi, Davies & Kelly, 2004; Dilis & Trichopoulou, 2010), devido à falta de concordância entre os resultados obtidos *in vivo* e *in vitro* (Schlesier, Harwat, Böhm & Bitsch, 2002) e à dependência dos resultados sobre o tipo de método utilizado (Cao & Prior, 1998), com diferentes sondas de oxidação, moléculas alvo e condições de realização em função dos métodos empregues (Jansen & Ruskovska, 2013; Bartosz, 2003). Alguns aspectos práticos da metodologia como o pH, comprimento de onda e tempo de ensaio também desempenham um papel importante na interpretação dos resultados de cada método de TAC (Magalhães, Segundo, Reis & Lima, 2008).

1.4.2.1.4.5. Stress oxidativo na DRC

Os rins representam cerca de 10% do consumo total de oxigénio pelo organismo, sendo um dos locais de elevado metabolismo aeróbio e subsequente produção de RLO enquanto subprodutos (Waz & Feld, 1994). Em condições fisiológicas, a nível renal é normal haver um nível reduzido de RLO, encontrando-se os danos por eles provocados sistematicamente sob reparação. Em condições normais, à semelhança do que se verifica com o restante organismo, a principal fonte geradora de RLO no rim é a cadeia respiratória mitocondrial nas células glomerulares, tubulares e macrófagos activados. Já os sistemas de defesa antioxidante mais importantes no rim incluem a SOD, CAT, NO sintase e a GPH-Px (Galle, 2001).

No sangue humano estão descritas duas formas de GPH-Px: a GPH-Px plasmática, cujo principal local de produção são as células epiteliais tubulares proximais do rim e a GPH-Px eritrocitária (Avissar *et al.*, 1994), presente sobretudo a nível dos eritrócitos, rins e fígado (Arthur, 2000; Mates, 2000). No Homem, a actividade da GPH-Px plasmática apresenta-se

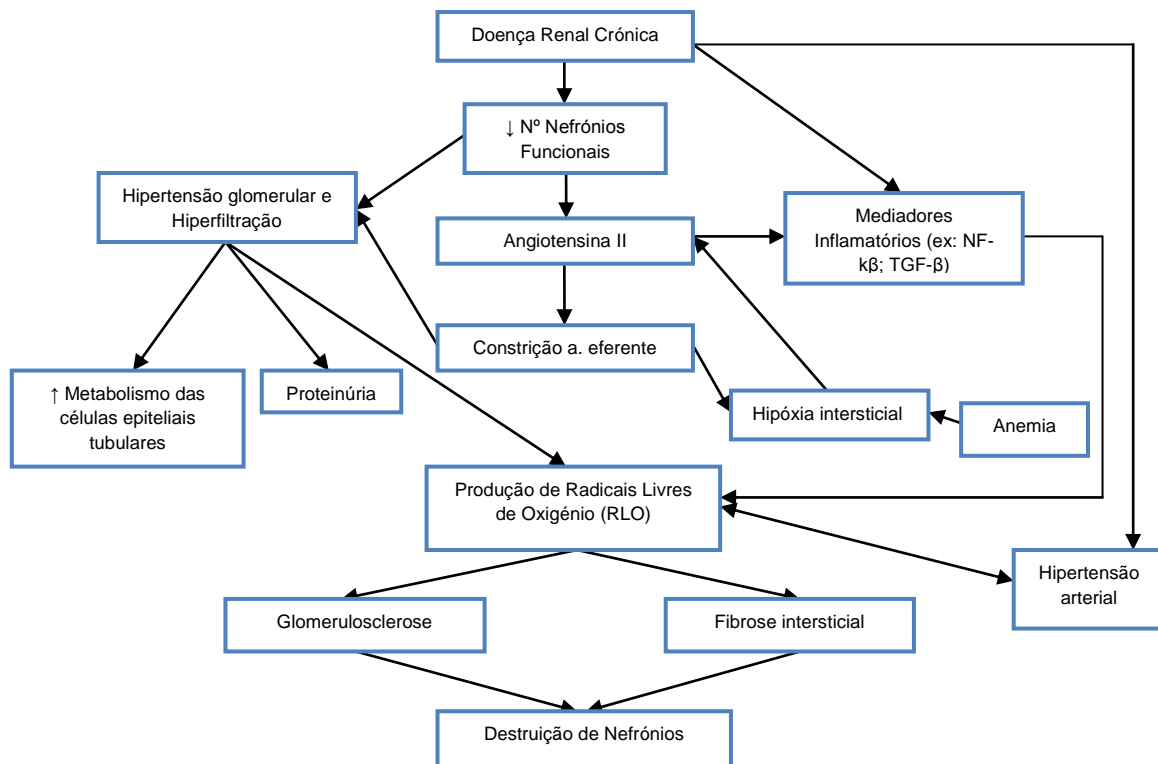
reduzida nos pacientes com DRC e constitui um importante factor de diagnóstico e prognóstico (Agarwal, 2003; Stenvinkel, 2002; Galle & Seibold, 2003).

Na DRC, o tecido renal remanescente torna-se hiperfuncional, conduzindo a um aumento da actividade pró-oxidante, ainda mais quando a própria DRC só por si está associada a uma depleção antioxidante (Locatelli *et al.*, 2003). Os animais com DRC apresentam alguns factores que contribuem para uma maior taxa de produção de RLO (Figura 1), como a idade avançada, a activação do SRAA e a inflamação crónica. A anemia também agrava este problema, ao contribuir para um estado de hipóxia renal, o qual conduz a uma maior produção de RLO, além de que os eritrócitos por si só apresentam também um papel antioxidante no rim (Galle, 2001), sobretudo através da GPH-Px eritrocitária (Avissar *et al.*, 1994).

A angiotensina II é um importante promotor de stress oxidativo renal (Kopyt, 2005), pois aumenta directamente a produção de RLO pelas células glomerulares (Agarwal, 2003) e tubulares (Singh *et al.*, 2006). Ao promover a contração da arteríola eferente, a angiotensina II também contribui para uma hipertensão glomerular e hiperfiltração com aumento do stress oxidativo a nível da camada endotelial e extravasamento de proteínas para o filtrado glomerular, obrigando as células epiteliais tubulares a um maior esforço. Estes três factores contribuem para um aumento do stress oxidativo a nível do nefrónio. Por sua vez, a constrição da arteríola aferente também limita o fluxo de sangue para os capilares peritubulares, contribuindo para o estado de hipóxia, ainda mais quando na presença de anemia (Rossert *et al.*, 2002). A hipóxia por sua vez também estimula a produção de colagénio fibroblástico (Agarwal, 2003; Rossert *et al.*, 2002), em parte por meio da maior produção de RLO.

A hipertensão arterial provoca frequentemente aumento da TFG e contribui para o “hiperfuncionamento” dos nefrónios remanescentes na DRC. Pensa-se que os RLO também possam contribuir para o aumento da PAS e que este aumento por sua vez promova a produção de ainda mais RLO (Kitiyakara *et al.*, 2003). Outro importante factor de risco é a proteinúria. No Homem, os marcadores urinários de stress oxidativo são mais elevados na urina proteinúrica de DRC (Agarwal, 2003). A albumina, particularmente se oxidada, é reabsorvida pela membrana luminal das células epiteliais tubulares, estimulando a produção de citocinas inflamatórias e quimiocinas nas células epiteliais tubulares proximais, particularmente atribuído à activação do factor nuclear NF- κ B, um importante regulador de genes pró-inflamatórios. Uma das citocinas com produção aumentada pelos RLO é o TGF- β , envolvido na inflamação e fibrose intersticial (Singh *et al.*, 2006) e cuja expressão e produção é também estimulada pela angiotensina II. Os mediadores inflamatórios, por sua vez, contribuem para um aumento da produção de RLO, gerando um ciclo vicioso (Agarwal, 2003).

Figura 1. Envolvimento dos RLO na patogénese da DRC. (Brown, 2008).



Pensa-se que no gato com DRC o stress oxidativo também possa contribuir para a inflamação renal intersticial, glomerulosclerose, hipertensão glomerular e sistémica, inflamação renal e declínio progressivo da função renal (Brown, 2008). Yu & Paetau-Robinson (2006) compararam os níveis séricos de MDA/TBARS e capacidade antioxidante total pelo método ORAC entre um grupo de gatos com DRC previamente diagnosticada e um grupo controlo de animais saudáveis. Além de terem demonstrado a existência de um estado pró-oxidante nos gatos com DRC, evidenciado por uma maior concentração média de TBARS associado a um menor poder antioxidante no grupo de animais doentes renais, quando comparado com o grupo de controlo, os autores verificaram igualmente uma redução do estado pró-oxidante após a realização de uma suplementação antioxidante. No estudo conduzido por Keegan & Webb (2010), foi possível de verificar uma diminuição da função neutrofílica associada a um estado pró-oxidante da DRC, identificado por uma diminuição da capacidade antioxidante (método do ABTS) associada a um aumento do rácio GSH/GSSG. Mais recentemente, Zel *et al.*, (2014), avaliaram a actividade da GPH plasmática e eritrocitária, juntamente com a capacidade antioxidante total pelo método do ABTS e apenas encontraram diferenças estatisticamente significativas nos gatos com DRC em estadio IV. Neste estudo, contrariamente ao esperado, não ocorreu uma diminuição das defesas antioxidantes nos gatos com DRC, mas antes um aumento do mesmo, evidenciado pelo aumento verificado nos valores do rácio GSH/GSSH. Este resultado sugere que na

DRC em felídeos parece haver um reforço do poder antioxidante (Zel *et al.*, 2014), contudo, nos estudos de Yu & Paetau-Robinson (2006) e Keegan & Webb (2010), os resultados parecem indicar o oposto, ao se ter verificado antes uma diminuição da capacidade antioxidante quer pelo método ORAC, quer pelo ABTS.

1.4.2.2. Fisiopatologia das alterações secundárias na DRC Felina

Os sinais clínicos e complicações da DRC progridem com o declínio da TFG devido à menor eliminação de toxinas urémicas e por conseguinte maior exposição às mesmas. Estas complicações são igualmente consideradas elas mesmas contribuidoras para progressão da DRC e aumento do risco de morbilidade e mortalidade em doentes com DRC (Reynolds & Lefebvre, 2013).

1.4.2.2.1. Hipertensão arterial sistémica

A hipertensão sistémica é frequentemente associada a DRC. A patogénese da hipertensão em gatos com DRC é multifactorial e inclui excreção diminuída de sódio, activação do SRAA, estimulação do sistema nervoso autónomo simpático (SNS), alterações estruturais das artérias, disfunção endotelial e stress oxidativo (Jepson, 2011). A hipertensão arterial sistémica pode afectar adversamente a função renal ao induzir hipertensão glomerular e proteinúria, além de aumentar igualmente o risco de lesões de órgão alvo (oculares, cardíacas e neurológicas) (Brown *et al.*, 2007).

1.4.2.2.2. Hiperparatiroidismo renal secundário (CKD-MBD- *mineral and bone disorders*)

A hiperfosfatémia e o hiperparatiroidismo (HPT) são encontrados, respectivamente em 13-100% e 47-100% dos gatos com DRC (Lulich *et al.*, 1992; Barber & Elliott, 1998; King *et al.*, 2007). O HPT é particularmente comum nos estadios II e III da DRC e sua gravidade aumenta com o nível de azotémia (Lulich *et al.*, 1992; Barber & Elliott, 1998; King *et al.*, 2007). Os sinais clínicos induzidos pelo HPT renal secundário podem resultar da precipitação de sais de fosfato de cálcio nos tecidos, porém é relativamente pouco comum ocorrer em gatos com DRC. (DiBartola *et al.*, 1987; Bertazzolo *et al.*, 2003).

O HPT renal secundário é um processo compensatório e posteriormente deletério que se desenvolve em resposta ao declínio da função renal, retenção de fósforo e incapacidade de activação da vitamina D (Kidder & Chew, 2009). Os mecanismos por detrás da fisiopatologia e homeostase do fósforo ainda permanecem por esclarecer totalmente. Porém, a recente descoberta das fosfatoninas (factores responsáveis pela inibição da reabsorção tubular de fósforo) e em particular do FGF-23 revolucionou a compreensão do controlo do fósforo e das alterações que ocorrem na homeostase do fósforo durante a DRC. Uma vez que a paratormona (PTH) não é a única interveniente na regulação da homeostase do fósforo e

cálcio na DRC, o termo HPT renal secundário foi largamente absorvido pelo conceito de “alterações ósseas e do metabolismo mineral secundários à DRC”, do inglês “*chronic kidney disease mineral and bone disorders*” (CKD-MBD) (Jepson, 2015a).

O FGF-23 é predominantemente produzido pelos osteócitos e osteoblastos, embora também já tenha sido descrita a sua produção no coração, fígado e glândulas tiróide e paratiróide no Homem (White *et al.*, 2000; Riminucci *et al.*, 2003). As suas ações fisiológicas primárias são as de promover a excreção renal de fósforo, por actuação nos co-transportadores tubulares de sódio e fósforo (Na/P), diminuição da produção de calcitriol, quer por inibição da 1- α -hidroxilase, quer por estimulação da 24-hidroxilase e a inibição da secreção de PTH (Baum *et al.*, 2005). As concentrações plasmáticas de FGF-23 encontram-se aumentadas na doença renal crónica no Homem, sugerindo que as mesmas começam por aumentar ainda cedo no curso da DRC, mesmo antes de qualquer evidência de hiperfosfatémia e HPT renal secundário (Isakova *et al.*, 2011). O FGF-23 já foi associado à mortalidade na DRC de estadio final em doentes humanos, bem como à progressão de DRC e enquanto factor de risco ao aparecimento de doenças cardiovasculares (Ferrari, Bonjour & Rizzoli, 2005; Koiwa *et al.*, 2005; Antonucci, Yamashita & Portale, 2006; Burnett *et al.*, 2006; Gutiérrez *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010; Gonzalez-Parra *et al.*, 2011; Isakova *et al.*, 2011; Isakova *et al.*, 2011a; Moe *et al.*, 2011; Yilmaz *et al.* 2012). Recentemente, num estudo realizado por Geddes *et al.* (2013), as concentrações de FGF-23 encontraram-se significativamente aumentadas com a progressão da DRC em gatos. Já antes, num outro estudo realizado por Finch *et al.* (2012), os gatos não azotémicos com mais de 9 anos que desenvolveram azotemia após 12 meses de acompanhamento apresentavam concentrações de FGF-23 significativamente maiores que aqueles que permaneceram não azotémicos, à semelhança do verificado para o Homem.

O mecanismo exacto pelo qual a hiperfosfatémia exerce os seus efeitos deletérios sobre o tecido renal ainda não é totalmente compreendido. A explicação mais consensual consiste no aparecimento de lesões de calcificação do parênquima renal, com consequente resposta inflamatória e fibrótica. Tanto em modelos experimentais como no Homem existe evidência de que a hiperfosfatémia se encontra associada a nefrocalcinose e consequente deterioração da função renal (Gimenez *et al.*, 1987; Cozzolino *et al.*, 2002). Porém, no único estudo realizado em felídeos com DRC adquirida, as concentrações plasmáticas de fósforo encontraram-se relacionadas com a fibrose intersticial renal, mas não com as lesões de mineralização tubular (Chakrabarti *et al.*, 2013), sugerindo que a associação entre o fósforo e a fibrose renal progressiva em gatos talvez possa não envolver mineralização do parênquima.

1.4.2.2.3. Hipocaliémia

A hipocaliémia é uma alteração comum em gatos com DRC (prevalência de 18-30%), especialmente naqueles em estadio IRIS II e III (Lulich *et al.*, 1992; DiBartola *et al.*, 1987; Elliott & Barber, 1998; Polzin, 2011a; Elliott, Syme, Rubens & Markwell, 2003; DiBartola & Autran de Moraes, 2012). A depleção de potássio pode induzir o aparecimento de acidose metabólica, nefropatia hipocaliêmica, fraqueza muscular e arritmia cardíaca (Dow *et al.*, 1990; DiBartola & Autran de Moraes, 2012). Desta forma a DRC pode conduzir a hipocaliémia, que por sua vez pode contribuir para a progressão da DRC e apresentação clínica da mesma (Reynolds & Lefebvre, 2013).

Em contraste, a hipercaliémia é pouco comum em gatos com DRC (prevalência de 5,8%) (King & Gunn-Moore & Tasker & Gleadhill & Strehlau, 2006; King *et al.*, 2007), excepto na DRC oligúrica em estadio final (DiBartola & Autran de Moraes, 2012).

1.4.2.2.4. Anemia

A anemia presente na doença renal, uma anemia do tipo normocítica e normocrômica, é frequentemente diagnosticada em gatos com DRC, especialmente nos estadios finais da doença (Cowgill, 1992; Chalhoub, Langston, Eatroff, 2011), afectando negativamente a qualidade de vida (Chalhoub *et al.*, 2011). Cerca de 30-65% dos gatos com DRC desenvolve anemia durante a progressão da sua doença renal (Cowgill, 1992; Lulich *et al.*, 1992; Jepson *et al.*, 2009; Chalhoub *et al.*, 2011), havendo uma diminuição do hematócrito à medida que a gravidade da DRC aumenta (Elliott *et al.*, 2003; King *et al.*, 2007). Esta anemia resulta essencialmente de uma produção inadequada de EPO. Outros factores a contribuir são a subnutrição (deficiência absoluta em ferro e deficiência em vitaminas do complexo B), diminuição do tempo de semi-vida eritrocitário, mielofibrose, inflamação crónica (deficiência relativa em ferro), toxinas urémicas, hiperparatiroidismo e hemorragias gastro-intestinais (Chalhoub *et al.*, 2011).

1.4.2.2.5. Acidose metabólica

A acidose metabólica é igualmente frequente nos gatos doentes renais crónicos, com prevalências de 22-88%, dependendo da gravidade da DRC (DiBartola *et al.*, 1987; Lulich *et al.*, 1992; Elliott *et al.*, 2003). Geralmente ocorre numa fase tardia da DRC (Elliott, Syme & Markwell, 2003). Um aumento no *anion gap* devido à baixa concentração de bicarbonato e cloro (Elliott *et al.*, 2003) pode ser observado, normalmente com desenvolvimento de hipoclorémia a preceder a acidose metabólica (Elliott *et al.*, 2003a). Pode ser resultado da depleção de potássio (Dow *et al.*, 1990), porém os gatos hipocaliémicos geralmente são capazes de manter a concentração de bicarbonato e pH do sangue venoso normais. A amoniagénesse renal, o principal mecanismo de excreção urinária de hidrogénio, pode estar diminuída na DRC e dessa forma contribuir para um estado de acidose metabólica (Elliott *et*

al., 2003). A hipoclorémia pode resultar da perda de cloro através do tracto gastrointestinal devido à hiperacidez gástrica e/ou vômito (Elliott *et al.*, 2003a). A acidose metabólica promove vários efeitos clínicos adversos no doente renal, incluindo anorexia, vômito, letargia, fraqueza e subnutrição (Polzin, 2011a).

1.4.2.2.6. Alterações cardiovasculares secundárias à DRC: Exemplo de Síndrome Cardio-Renal no Homem?

O coração e os rins compartilham funções e cooperam em conjunto na conservação da homeostase corporal. A relação íntima que existe entre estes dois órgãos vitais ocorre a vários níveis, incluindo o SRAA, o SNS, péptidos natriuréticos, endotelina e hormonas antidiuréticas (Schrier & Abraham, 1999) e permite manter a estabilidade hemodinâmica e uma perfusão eficaz dos tecidos à distância. As mudanças funcionais subtis num dos órgãos são compensadas pelo outro, no entanto, esta compensação acaba por se tornar insuficiente e deletéria quando a lesão assume proporções consideráveis. A disfunção cardíaca conduz ao esgotamento da capacidade renal de manutenção da filtração glomerular e de regulação de fluídos, eletrólitos e eliminação de toxinas. Da mesma forma, a disfunção renal afecta o desempenho cardíaco, ao provocar desequilíbrios eletrolíticos e sobrecarga de volume (Viswanathan & Gilbert, 2011). Em medicina, esta interação fisiopatológica recebeu a designação de Síndrome Cardio-Renal (SCR).

A SCR engloba uma extensa variedade de situações clínicas caracterizadas pelo agravamento concomitante das funções renal e cardíaca (Martins, 2011). Em termos gerais, a SCR pode ser definida como uma alteração fisiopatológica do coração e dos rins na qual a disfunção aguda ou crónica de um dos órgãos pode induzir a disfunção aguda ou crónica do outro (Ronco, Haapio, House, Anavekar & Bellomo, 2008). Em medicina humana, a definição geral de SCR foi expandida a 5 subtipos de acordo com a disfunção primariamente estabelecida e o tempo de evolução (Tabela 9).

Tabela 9. Classificação da síndrome cardio-renal. Segundo Ronco *et al.* (2008).

Tipo 1: Síndrome cárdio-renal agudo: Um agravamento súbito da função cardíaca dá origem a lesão renal aguda.
Tipo 2: Síndrome cárdio-renal crónico: Alterações crónicas da função cardíaca contribuem para o desenvolvimento de doença renal progressiva e potencialmente irreversível.
Tipo 3: Síndrome reno-cardíaco agudo: Um agravamento súbito da função renal dá origem a lesão cardíaca aguda.
Tipo 4: Síndrome reno-cardíaco crónico: Alterações crónicas da função renal contribuem para a diminuição da função cardíaca, hipertrofia cardíaca e/ou aumento do risco de lesões cardiovasculares.
Tipo 5: Síndrome cárdio-renal secundário – A existência de uma doença sistémica (ex:diabetes mellitus, sépsis) contribui simultaneamente para a disfunção cardíaca e renal.

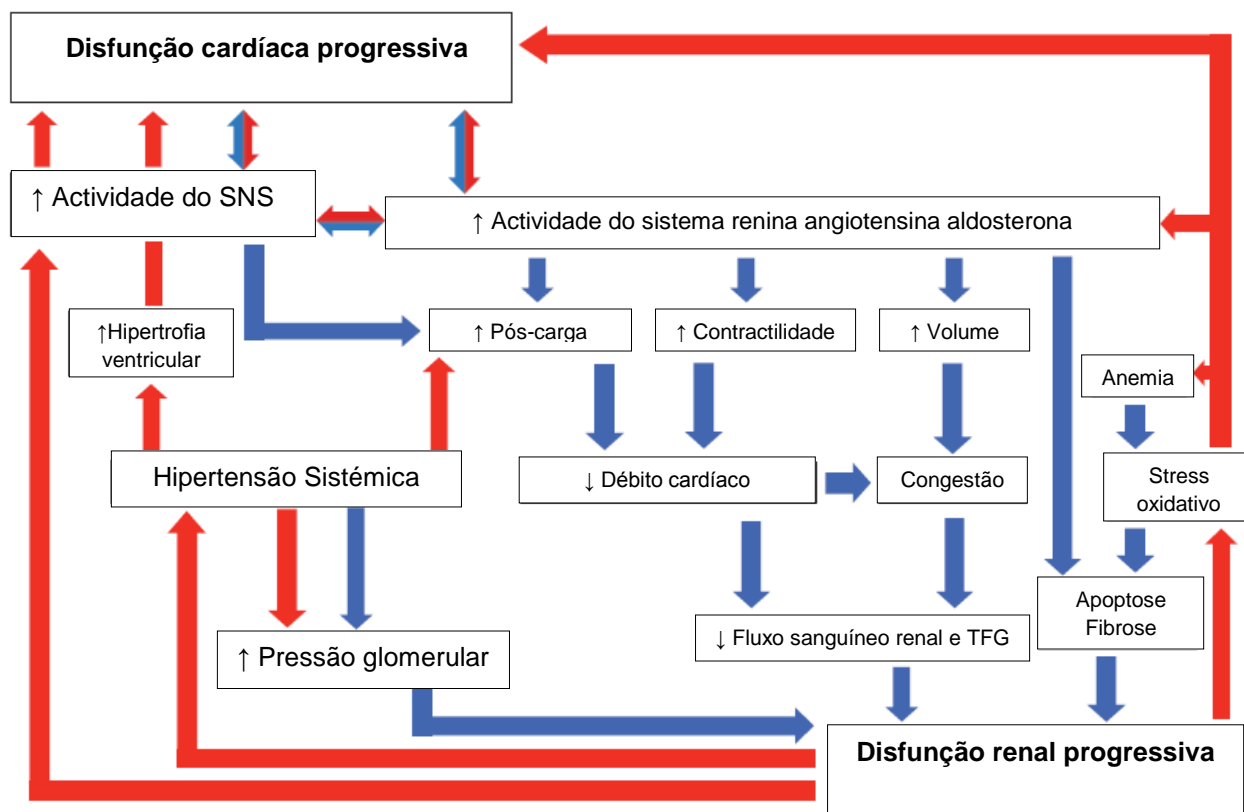
Embora a epidemiologia, o diagnóstico, a prevenção e manejo da SRC no Homem já tenham sido propostas por vários autores (Ronco *et al.*, 2010, McCullough *et al.* 2013, Braam *et al.* 2014, Ronco & Di Lullo, 2014), os seus mecanismos fisiopatológicos e relevância clínica permanecem por esclarecer completamente (Braam *et al.* 2014; Ronco & Di Lullo, 2014). Os mecanismos subjacentes à SCR são potencialmente multifactoriais, incluindo alterações hemodinâmicas, activação neurohormonal, inflamação, stress oxidativo, anemia e desequilíbrios metabólicos e minerais (Du, Li & Liu, 2013) (Figura 2).

Em felídeos, as doenças renais e cardíacas são frequentemente reconhecidas como sendo causas importantes de morbilidade e mortalidade (Buchanan 1992, Riesen *et al.*, 2007, Fleming *et al.*, 2011; Chakrabarti *et al.*, 2013); porém, até há pouco tempo, em clínica de animais de companhia, a interação fisiopatológica entre os dois sistemas permanecia por descrever. Recentemente, Pouchelon *et al.* (2015) constituíram o primeiro grupo de consenso, composto por 9 veterinários especialistas em cardiologia e outros 7 especialistas em nefrologia, para discutir e chegar a um primeiro consenso para a definição, fisiopatologia, diagnóstico e manejo da síndrome cardio-renal em cães e gatos.

É importante enfatizar que as manifestações de doença renal e cardíaca diferem entre espécies, limitando desta forma a validade de alguma informação proveniente da clínica humana na prática veterinária, bem como as comparações entre cães e gatos. A doença cardíaca no Homem encontra-se essencialmente relacionada com a hipertensão e a doença coronária, enquanto que nos felídeos surge mais vezes associada a cardiomiopatias e em menor grau à hipertensão. Da mesma forma, também as doenças renais no Homem não se correlacionam exactamente com o observado na prática veterinária (Pouchelon *et al.*, 2015).

Todavia existem alguns aspectos comuns, relativos à fisiopatologia, que merecem a atenção e aplicação à medicina veterinária.

Figura 2. Esquema dos mecanismos postulados para a relação entre a disfunção cardíaca e renal. Fonte: Pouchelon *et al.*, 2015 (original de Bock & Gottlieb, 2010, modificado para incluir a hipertensão sistêmica).



Legenda: As setas azuis indicam as vias pelas quais a doença cardíaca pode conduzir ao aparecimento de doença renal; As setas vermelhas indicam as vias pelas quais a doença renal pode conduzir a doença cardíaca. A importância relativa de cada um dos mecanismos aqui representados e outros adicionais, não discutidos, é desconhecida (i.e. as caixas de texto não foram concebidas à escala). “TFG” Taxa de filtração glomerular; “SNS” Sistema nervoso autónomo simpático.

Apesar da escassez de informações específicas a respeito da fisiopatologia da SRC em medicina veterinária, a literatura disponível sugere uma grande probabilidade das alterações “cardio-reno-vasculares” (termo comparativo à SCR humana, adoptado pelo painel de consenso) nos animais partilharem alguns aspectos com a SRC humana, nomeadamente as alterações hemodinâmicas, activação neurohormonal e os RLO, para enumerar algumas. Não existe muita informação sobre evidências directas de síndrome reno-cardíaca (equivalente à SCR tipo 3 e 4) no cão e gato (Sampedrano *et al.*, 2006; Wilson *et al.*, 2010). À semelhança do que se verifica para o Homem, existe muito mais conhecimento e experiência clínica no que diz respeito à síndrome cárdio-renal do que à reno-cardíaca (Ronco *et al.*, 2008); porém, é reconhecida a existência de efeitos negativos da doença renal sobre o sistema cardiovascular (Bagshaw *et al.*, 2013, Tumlin *et al.*, 2013, Ronco & Di Lullo

2014). Por exemplo, alterações eletrolíticas como a hipercaliémia, que pode complicar a DRC, encontra-se igualmente associada a arritmia cardíaca (Bagshaw *et al.*, 2013) e vários fármacos utilizados no tratamento de doença cardíaca, como a digoxina, enalapril e atenolol, que sofrem excreção renal, provocam disfunção renal primária e diminuição da clearance renal e podem provocar o aparecimento de sinais de toxicidade como arritmias, hipotensão e agravamento da função miocárdica. Os doentes urémicos sofrem habitualmente de vômito, hipodipsia e anorexia e, como tal, podem-se apresentar com depleção de volume e consequente redução do débito cardíaco. A hipertensão arterial, uma sequela comum na DRC, pode resultar em hipertrofia e disfunção do miocárdio em gatos (Chetboul *et al.*, 2003, Henik *et al.*, 2004, Sampedrano *et al.*, 2006). Deve-se acrescentar ainda que também a azotémia pode apresentar efeitos adversos sobre os cardiomiócitos. A acumulação de toxinas urémicas (cardiomiopatia urémica) constitui um factor depressor do miocárdio, afectando a sua contractilidade e levando à disfunção sistólica e/ou diastólica (Mall *et al.*, 1990; Hawwa, Schreiber & Tang, 2013). O sulfato de indoxil (SI), uma toxina urémica não dialisável, foi associada ao aparecimento de lesões de fibrose no coração em modelos animais de DRC (Lekawanvijit *et al.*, 2012), tendo os mesmos autores demonstrado a mesma relação em modelos *in vitro* de células musculares cardíacas, onde o SI apresentou acções profibróticas e pro-hipertróficas (Lekawanvijit *et al.*, 2010). No que diz respeito à medicina veterinária, Cheng, Hsieh, Chou, Hsu & Lee (2015) realizaram o primeiro estudo onde detectaram níveis elevados de SI em cães e em gatos com DRC, tendo este apresentado correlação positiva com as concentrações de ureia, creatinina e fósforo, tendo sido a correlação com o fósforo a mais forte ($R=0,71$, $p<0,01$), sobretudo nos animais e estadio IRIS IV. Esta toxina urémica encontra-se associada à indução de RLO e redução da actividade da SOD, (Taki *et al.*, 2006; Owada *et al.*, 2007), nefrotoxicidade, cardiotoxicidade e citotoxicidade osteoblástica (Vanholder *et al.*, 2003; Wikoff *et al.*, 2009).

Também a activação do SRAA, ao induzir hiperaldosteronémia, é responsável por promover o aparecimento de lesões de fibrose cardíaca, através da criação de sinais que conduzem à produção de factores de crescimento profibróticos (Steigerwalt, Zafar, Mesiha, Gardin & Provenzano, 2007). A hipertrofia ventricular esquerda pode ainda ser promovida pela deficiência em ferro, EPO e ainda em vitamina D (Strozecki *et al.*, 2001). Mais recentemente, surge cada vez mais associada a um outro biomarcador envolvido na patogénese da DRC, o já mencionado FGF-23. Vários estudos sugerem uma relação próxima entre o FGF-23 e a hipertrofia ventricular esquerda, ao apresentar uma associação forte e independente com a magnitude das lesões de hipertrofia do ventrículo esquerdo (Moon *et al.*, 2000; Chmielewski, Carrero, Stenvinkel & Lindholm, 2009; Unsal *et al.*, 2012; Knap *et al.*, 2013; Eser *et al.*, 2015; Grabner *et al.*, 2015; Unver *et al.*, 2015), tendo ainda apresentado correlação com os valores séricos de troponina cardíaca T (cTnT) (Holden *et*

al., 2012; Smith *et al.*, 2013) e mortalidade por doença cardiovascular no Homem (Holden *et al.*, 2012).

Existem evidências crescentes da participação do stress oxidativo na SCR tipo 4. Liu *et al.* (2015) demonstraram o envolvimento do stress oxidativo num estudo *in vivo*, que envolveu uma amostra de ratos com doença renal crónica induzida experimentalmente. Nele verificaram que os indicadores de stress oxidativo se encontraram marcadamente aumentados e associados de forma significativa a lesões de remodelação e disfunção cardíaca. No mesmo estudo, a suplementação antioxidante permitiu atenuar a remodelação cardíaca, o aparecimento de lesões de fibrose intersticial do miocárdio e ainda melhorar a função cardíaca (Liu *et al.* (2015).

No Homem, os doentes renais crónicos apresentam um risco de doença cardiovascular 10 a 100 vezes superior (Groothoff *et al.*, 2002; Parekh *et al.*, 2002; Tonelli *et al.*, 2006; Hallan *et al.*, 2012). A cardiomiopatia urémica é uma causa significativa de morbilidade e mortalidade entre os doentes com DRC (Groothoff *et al.*, 2002; Parekh *et al.*, 2002; Stenvinkel *et al.*, 2008; Alhaj *et al.*, 2013). A hipertrofia ventricular esquerda e a disfunção diastólica são alterações características da cardiomiopatia urémica no Homem com DRC (Hayashi *et al.*, 2006; Mitsniefes *et al.*, 2006; Edwards *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2012; Matteucci *et al.*, 2013; Scavarda *et al.*, 2014; Asp *et al.*, 2015). No gato, a prevalência de hipertrofia ventricular esquerda em doentes renais crónicos encontra-se estimada nos 46,6% (Taugner *et al.*, 1996), sendo que cerca de 59% dos gatos com CMH são azotémicos e 12,7% têm DRC (Reynolds & Lefebvre, 2013). Em 2009, Simpson *et al.* com recurso à técnica de doppler tecidual pulsátil (uma técnica que permite avaliar a função sistólica e diastólica do miocárdio através da medição do pico instantâneo de velocidade de contração miocárdica), foram os primeiros a demonstrar a existência de uma ligeira disfunção diastólica em gatos com DRC, mesmo quando todos os restantes parâmetros ecocardiográficos convencionais se encontravam dentro dos valores normais. Os autores deste estudo tentaram explicar esta descoberta com a eventual presença de lesões de fibrose intersticial do miocárdio, já descritas no Homem com DRC urémica (Mall, Huther, Schneider, Lundin & Ritz, 1990). Este tipo de lesões também já foram descritas em gatos com CMH (Liu, 1970), porém ainda sem qualquer estudo que as relacione com a presença de DRC.

1.4.2.2.6.1 Biomarcadores cardíacos

Recentemente, os biomarcadores cardíacos têm ganho popularidade como testes de despiste não-invasivos para a presença de doença cardíaca no Homem, em cães e em gatos (Boswood, 2007; MacDonald, 2010).

Em Medicina Humana, os biomarcadores cardíacos encontram-se divididos em categorias relacionadas com determinadas situações clínicas: 1) lesão ou necrose do miocárdio; 2) função miocárdica; 3) homeostase de lipoproteínas séricas (HDL, LDL); e 4) inflamação do sistema cardiovascular. No entanto, em Medicina Veterinária, estes dois últimos tipos de biomarcadores não são específicos para a doença miocárdica (Solter, 2007).

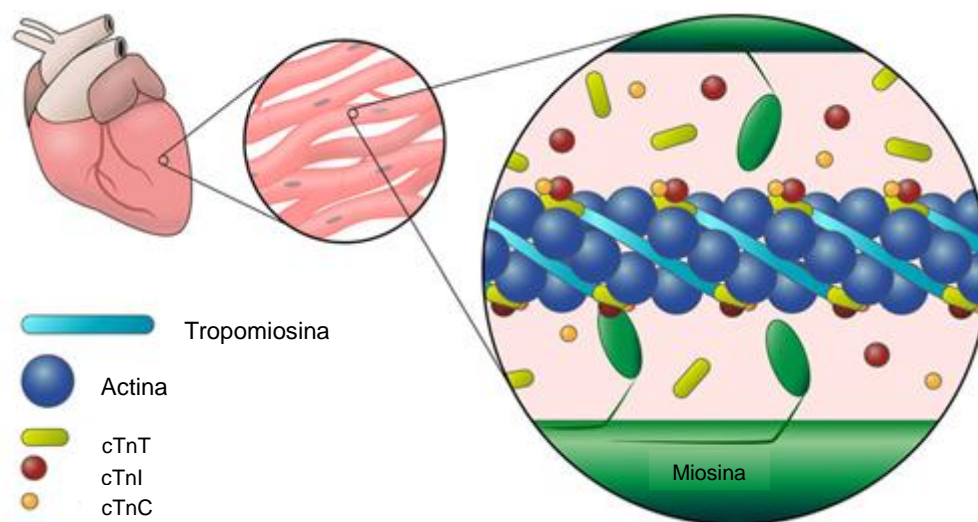
Em Medicina Veterinária os biomarcadores cardíacos dividem-se essencialmente em dois grupos, os que indicam morte das células miocárdicas ou os biomarcadores de lesão, e aqueles que são libertados por elementos presentes no coração ou sistema cardiovascular quando sujeitos a qualquer tipo de stress fisiopatológico, levando a insuficiência e disfunção. Estes últimos são normalmente marcadores neurohumorais ou marcadores inflamatórios (Boswood, 2007).

Como exemplos de biomarcadores cardíacos de lesão temos as troponinas cardíacas I e T (cTnI/T), a mioglobina, a creatinoquinase MB (CK-MB) e o lactato desidrogenase (LDH) (Terri, 2008), sendo as troponinas cardíacas as mais relevantes (Boswood, 2007). Por sua vez, os biomarcadores indicadores de insuficiência do miocárdio são os peptídeos natriuréticos atriais (NT-proANP), os peptídeos natriuréticos cerebrais (NT-proBNP), as endotelinas, adrenomedulina e o TNF- α (Terri, 2008), sendo os peptídeos natriuréticos os mais importantes (Boswood, 2007).

1.4.2.2.6.1.1 Troponinas Cardíacas

O complexo das troponinas cardíacas é constituído por 3 subunidades que em conjunto regulam a contração dos cardiomiócitos (Figura 3). A troponina cardíaca T (cTnT), a subunidade de ligação à tropomiosina, mantém o complexo ligado ao filamento fino de actina. As outras sub-unidades são responsáveis pela inibição e promoção da contração mediada pelo cálcio e ATP. Na ausência de cálcio, a troponina cardíaca I (cTnI), a sub-unidade inibitória, inibe a hidrólise do ATP necessário à interação actina-miosina. O ião cálcio é o iniciador da contração ao remover o bloqueio à interação entre os filamentos, através da interação com a sub-unidade de ligação ao cálcio, a troponina cardíaca C (cTnC) (Li, Wang & Sykes, 2004; Cunningham & Klein, 2007; Gomes & Potter, 2004; Metzger & Westfall, 2004; O'Brien, 2008).

Figura 3. Ilustração do aparelho contrátil de um cardiomiócito. (Langhorn & Willesen, 2015).



Legenda: Interação entre os filamentos de actina e miosina, mediado pelo complexo da troponina (Troponinas I, T e C). A grande maioria da troponina encontra-se estruturalmente ligada ao filamento de actina e tropomiosina associada, havendo uma pequena percentagem livre no citosol.

As troponinas são libertadas para o espaço vascular a partir de cardiomiócitos isquémicos ou necróticos (Boswood, 2007; Oyama, 2007) e são consideradas marcadores altamente específicos de lesão celular (Terri, 2008; Yonewaza *et al.*, 2009). A análise da estrutura das troponinas cardíacas revela uma grande semelhança entre as diferentes espécies, sobretudo a troponina I (O'Brien *et al.*, 1997), o que possibilita a utilização de ensaios concebidos para o Homem (Solter, 2007; Terri, 2008). Ainda recentemente, Langhorn, Willesen, Tarnow, Kjølgaard-Hansen (2013) validaram a utilização de um imuno-ensaio ultrasensível de cTnI, o ADVIA Centaur cTnI Ultra®, com excelentes resultados tanto em amostras de canídeos como de felídeos domésticos.

Em Medicina Humana, a medição das troponinas cardíacas é o teste de eleição para a deteção de enfarte do miocárdio (Shober, 2005; Oyama, 2007; Solter, 2007; Ettinger & Prosek, 2010), devido à sua excelente sensibilidade e especificidade (Boswood, 2007), sendo também útil para o diagnóstico de outras causas de lesão miocárdica como traumatismo, miocardite, insuficiência cardíaca avançada, sépsis, quimioterapia com doxorubicina (Terri, 2008), CMH, CMD, arritmias e hipertensão sistémica (Oyama, 2009). Porém, e embora os enfartes cardíacos sejam relativamente raros nos animais de companhia, outras doenças cardíacas comuns, como a degenerescência mixomatosa da válvula mitral, estenose sub-aórtica e cardiomiopatias, incluindo a CMH felina, também danificam o músculo cardíaco, produzindo uma elevada concentração de troponinas

cardíacas (Oyama, 2007; Terri, 2008), mostrando grande utilidade no seu diagnóstico e na determinação do prognóstico em animais (Ettinger & Prosek, 2010).

Contudo existem outras afeções que ao provocar lesão cardíaca secundária também se encontram associadas a aumentos de concentração sanguínea de troponinas, como é o caso da dilatação e torção gástrica, babesiose e piómetra, por exemplo (Yonewaza *et al.*, 2009; Ettinger & Prosek, 2010), pelo que é necessário levar em consideração aquando a sua interpretação.

Em animais com função cardíaca aparentemente normal, mas com lesão renal aguda ou crónica, as concentrações plasmáticas de NT-proBNP e cTnI encontram-se aumentadas (Porciello *et al.*, 2008; Lalor, Connolly, Elliott & Syme, 2009; Schmidt *et al.* 2009; Sharkey *et al.* 2009; Miyagawa *et al.* 2013). Porém, uma das grandes limitações em todos estes estudos foi a ausência de exame ecocardiográfico que permitisse fazer o despiste de animais com lesões cardíacas. No Homem, verifica-se o mesmo cenário e especula-se que tais aumentos possam ser devidos a excreção renal diminuída, como sendo parte da síndrome cardiorenal (toxinas urémicas) (Members, 2013) ou a combinação de ambos (Waldum & Os, 2013; Palazzuoli, Masson, Ronco & Maisel, 2014).

Pelo facto de todos estes biomarcadores apresentarem algum grau de excreção urinária, existe entre alguns autores a dúvida se nestes estudos o aumento dos péptidos natriuréticos e das troponinas cardíacas reflecte a existência de lesão cardíaca, ou apenas a sua excreção diminuída (Porciello *et al.*, 2008).

Em gatos com DRC azotémica, o cTnI encontrou-se frequentemente aumentado, porém sem correlação significativa para com o grau de azotémia (creatinina ou ureia), sugerindo que o estado azotémico em si é mais importante que a gravidade do mesmo, quando comparamos os valores de troponina com um grupo controlo não azotémico (Porciello *et al.*, 2008). Apenas um estudo publicado avaliou os níveis séricos de péptidos natriuréticos (NT-proANP and NT-proBNP) em gatos com DRC e não hipertensos, comparando-os com um outro grupo de animais saudáveis igualmente sem hipertensão arterial (Lalor *et al.*, 2009). Nesde estudo os níveis de NT-proBNP foram significativamente superiores nos gatos com maior grau de azotémia, em comparação com os felídeos saudáveis do grupo controlo, embora uma vez mais, sem correlação com as concentrações de ureia e creatinina.

No estudo realizado por Bjorman *et al.* (2015), o NT pro-BNP e troponinas I e T apresentaram valores mais elevados nos indivíduos com menores taxas de filtração glomerular, tendo aumentado de forma inversa à TFG. Contudo a associação entre os marcadores NT pro-BNP, cTnI e cTnT foi fraca ($r < 0,35$) e os níveis de cTnI foram inclusivamente os menos afectados pela TFG reduzida, quando comparados com a cTnT, como já havia sido verificado em outro estudo (Lippi & Cervellin, 2013).

Mais recentemente, Langhorn, Kloster, Jessen, L.R., Jensen, A. & Koch (2015) analisaram os valores de cTnI quer no soro, quer na urina em felídeos com DRC, num grupo controlo e num grupo de gatos com doença cardíaca. Além de terem observado um aumento da concentração sérica de cTnI no grupo de gatos com DRC comparativamente ao grupo controlo (0,16 vs 0,016 ng/mL), estes felídeos também apresentaram valores superiores aos obtidos no grupo de animais com doença cardíaca (0,16 vs 0,058 ng/ml). Curiosamente, também no grupo de animais DRC se registaram os valores urinários de cTnI mais elevados, tendo sido mensuráveis em 71% dos casos, algo que não se verificou no grupo de gatos com doença cardíaca, onde não foi possível medir valores acima do limite mínimo de deteção (0,006 ng/mL). Pode aqui verificar-se que na presença de função renal comprometida parece haver um aumento dos níveis urinários de cTnI, o que vem de certa forma refutar o argumento que relaciona estes aumentos com uma menor excreção urinária.

III. Trabalho experimental “Avaliação dos valores séricos de troponina cardíaca I (cTnI) e capacidade antioxidante total (TAC) em felídeos com doença renal crónica”

1. Introdução

A ideia para a realização do presente trabalho surgiu do crescente interesse da comunidade médica e mais recentemente dos profissionais médico-veterinários para o estudo das interações fisiopatológicas entre os rins e o sistema cardiovascular, a que os primeiros designaram por “Síndrome cardio-renal” (Ronco *et al.*, 2008). Alimentado por este tema e pela prevalência considerável de felídeos com doença renal crónica, com cardiomiopatia hipertrófica ou ambas, duas entidades comórbidas cujos mecanismos fisiopatológicos permanecem por esclarecer totalmente, procurou-se encontrar indícios de uma eventual ligação causa-efeito entre estas duas doenças em felídeos. Para isso realizou-se a medição de biomarcadores de lesão cardíaca em felídeos com DRC, concretamente a troponina cardíaca I (cTnI), um marcador de lesão do miocárdio, já largamente estudado e um dos marcadores utilizados no Homem como indicador de risco de doença cardíaca isquémica em pacientes com DRC, sobretudo em estadio final. Também em medicina veterinária existem alguns estudos da cTnI em animais doentes renais crónicos azotémicos, porém insuficientes e com tamanhos amostrais reduzidos, além de outras limitações metodológicas, como a ausência de exame ecocardiográfico concomitante, não tendo sido possível associar o aumento de concentração verificado nas diferentes amostras estudadas à presença de lesão cardíaca associada à DRC. Como tal, surgiu a dúvida se tais aumentos não poderiam ser antes devidos a uma eventual diminuição da eliminação urinária de cTnI. O presente trabalho levou em consideração essa limitação e como tal foi realizado o despiste ecocardiográfico de lesão cardíaca oculta, concretamente de CMH.

O stress oxidativo é um factor intimamente relacionado com a fisiopatologia quer da doença renal crónica, quer com a hipertrofia e fibrose do miocárdio, directamente por lesão celular ou indirectamente através da activação de mediadores inflamatórios e subsequente lesão tecidular. Há vários métodos de avaliação disponíveis, directos e indirectos. Os mais utilizados são os indirectos, quer por meio da quantificação de moléculas oxidadas, quer através da avaliação de poder ou capacidade antioxidante. Para este trabalho foi possível contar com material necessário à avaliação da TAC, um método baseado na transferência de electrões, concretamente o método CUPRAC.

Este estudo procura assim encontrar uma eventual associação entre a existência de um estado pró-oxidante e eventuais lesões cardíacas sub-clínicas decorrentes da DRC, evidenciado por uma redução da capacidade antioxidante e aumento na concentração de cTnI, comparativamente a animais aparentemente saudáveis. Como não foi possível seguir

estes animais em tempo útil de conclusão da dissertação, pretende-se que todos os animais sejam reavaliados ecocardiograficamente, num intervalo mínimo de 6 meses, na tentativa de encontrar um eventual valor de prognóstico de algum destes dois indicadores quer para o aparecimento de lesões de hipertrofia ventricular esquerda, quer para o tempo de sobrevivência.

2. Objectivo

Este estudo teve como principal objectivo, comparar os níveis séricos de troponina cardíaca I (cTnI) de indivíduos geriátricos com doença renal crónica (concentração plasmática de creatinina $> 1,6$ mg /dL e DUE < 1.035), com os de indivíduos saudáveis da espécie felina, avaliar a relação destes com alguns parâmetros ecocardiográficos e avaliar o eventual envolvimento do stress oxidativo na DRC, a sua relação com a cTnI e a sua relação com alguns parâmetros ecocardiográficos.

3. Materiais e métodos

Este estudo teve lugar no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa), no período de 1 de Julho de 2015 a 26 de Janeiro de 2016. Para o efeito, foi reunida uma amostra de 20 indivíduos da espécie felina (*Felis catus*) de ambos os sexos. Os animais foram provenientes tanto da realização de rastreios de doença renal crónica a gatos com idade superior a 8 anos, como da reavaliação de gatos com doença renal crónica previamente diagnosticada. O rastreio consistiu na realização de um exame de estado geral com colheita de amostra de sangue para hemograma e bioquímicas de função renal (creatinina, ureia) e amostra de urina para urianálise tipo II. Foram ainda determinadas a glicémia e proteínas totais, a primeira para exclusão de animais suspeitos de diabetes mellitus (em associação com glicosúria e outros sinais clínicos característicos como polifagia e perda de peso) e a segunda para distinção da origem de eventual proteinúria (pré-renal vs renal). Na presença de sinais gastro-intestinais, CC obesa e desconforto à palpação abdominal, foi realizada a determinação dos valores de ALT (alanina aminotransferase), para despiste de alterações hepáticas. Foi ainda avaliada a concentração plasmática de fósforo inorgânico e em caso de DRC, também foi avaliado o RCPU.

Com base nestes parâmetros e ainda na medição da pressão arterial, foi feito o estadiamento da doença renal crónica para cada indivíduo segundo as normas da IRIS (*International Renal Interest Society*). Cada indivíduo foi ainda submetido a um exame ecocardiográfico com apreciação global da arquitectura e função cardíaca. Nele foi obtido um conjunto de medições, em particular, a respeito da câmara ventricular esquerda com o objectivo de avaliar eventuais alterações associadas à doença renal crónica e relação com os valores séricos de cTnI e TAC.

3.1. Critérios de inclusão

Todos os felídeos de ambos os sexos, com mais de 8 anos de idade, saudáveis e com diagnóstico de DRC, com base nos sinais recolhidos na história clínica (ex: Pu/Pd, anorexia, perda de peso), exame clínico e exames laboratoriais (concentração plasmática de creatinina $>1,6$ mg/dL e DUE < 1.035).

3.2. Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo todos os indivíduos com azotémia pré-renal ou pós-renal, com diagnóstico de DM tipo II, hipertiroidismo [pela ausência de sinais clínicos característicos (polifagia, caquexia, taquicardia, ruído de galope, hiperactividade), sendo que em caso dúvida, a exclusão seria determinada pelos valores séricos da hormona T4], cardiomiopatia hipertrófica (CMH), neoplasia, doença hepática, alterações no leucograma sugestivas de processo infeccioso/inflamatório em curso, os medicados com fármacos anti-hipertensores (ex: amlodipina), antiproteinúricos (ex: benazepril ou telmisartan), antibióticos ou anti-inflamatórios (esteróides e não esteróides) e ainda os animais positivos para os vírus FIV/FeLV.

3.3. Grupos em estudo

Os indivíduos foram divididos em 2 grupos, o Grupo Controlo (n=10), que incluiu os animais aparentemente saudáveis, sem DRC e o Grupo DRC (n=10), o qual incluiu os animais com diagnóstico de DRC, após avaliação da anamnese, exame físico e laboratorial.

3.4. Recepção ao consultório, anamnese e exame físico

A chegada ao Hospital foi feita sob marcação prévia em horário próprio, de forma a reduzir o tempo de espera e minimizar o stress de cada animal. A entrada no consultório deu-se por um corredor paralelo ao habitualmente usado, junto à sala de espera reservada aos felídeos, de forma a reduzir ao máximo o contacto com outros animais. O consultório foi previamente preparado para receber cada animal, com temperatura ambiente adequada ($18-21^{\circ}\text{C}$), pulverização de análogo das feromonas felinas (*Feliway*®) e todo o equipamento necessário a postos (medidor de pressão arterial e material de colheita de sangue). Enquanto se procedeu à recolha da anamnese foi permitido que cada animal se ambientasse ao consultório, durante pelo menos 5 minutos. A anamnese incidiu sobretudo na procura de alguns sinais inespecíficos presentes na DRC (evolução do peso, ingestão de água, micção e frequência de vômito).

Cada animal foi ainda discriminado quanto ao estatuto FIV/FeLV, caso este já fosse do conhecimento do proprietário. Após a recolha da anamnese e terminado o período mínimo de habituação à sala, procedeu-se à recolha dos valores da pressão arterial (PAS - Pressão arterial sistólica; PAM - Pressão arterial média; PAD - Pressão arterial diastólica).

3.5. Determinação dos valores de pressão arterial

Os valores de pressão arterial (PAS/PAM/PAD) foram avaliados pelo método indirecto oscilométrico, com recurso a um aparelho de oscilometria de alta definição (HDO – High Definition Oscilometry) o Vet HDO Memodiagnostic S + B medVET, Systeme Beratungs, respeitando as orientações propostas pelo grupo de consenso do ACVIM e pela ISFM (Anexo 2). Os resultados obtidos corresponderam aos valores médios de pelo menos 5 medições consecutivas sem interferência.

3.6. Exame físico

Imediatamente após a determinação dos valores de pressão arterial, procedeu-se à realização de um exame físico completo, com destaque para a qualidade da pelagem, estado de hidratação, condição corporal, coloração das mucosas e palpação abdominal, com particular interesse na palpação renal.

3.7. Colheita e armazenamento de amostras biológicas

A colheita e armazenamento de amostras sanguíneas foi realizada em acto de consulta e com o consentimento prévio dos proprietários. A amostra de sangue foi obtida de forma a ser suficiente para a realização do hemograma e parâmetros bioquímicos em estudo e avaliação da TAC e da cTnI. Esta colheita, de 1,5-2 ml de sangue, foi realizada por venopunção (v.femoral) e o sangue distribuído por 3 tubos de colheita [0,5 ml em tubo com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético); 0,5 ml em tubo com anticoagulante heparina de lítio; 0,5 - 1 ml em tubo seco]. O sangue no primeiro tubo destinou-se à realização do hemograma e no segundo às bioquímicas renais. Imediatamente após a colheita foi ainda avaliada a glicémia por glucómetro e as proteínas totais por refractómetro, após realização de microhematócrito, para descarte de potenciais causas de proteinúria de origem pré-renal, nomeadamente disproteinémias (ex: proteínas de Bence-Jones). A amostra armazenada em tubo seco foi colocada durante um período mínimo de 15-30 minutos a temperatura de refrigeração (2 a 8°C), nunca ultrapassando as 2 horas. Foi depois centrifugada durante cinco minutos a 5000 rotações por minuto (rpm) e, em seguida, o sobrenadante (soro) foi armazenado em duas alíquotas [uma contendo 0,3-0,4 ml (cTnI) de soro e a outra 0,1 ml (TAC)] a uma temperatura de congelação de -80°C até análise.

A amostra de urina (3 ml) foi colectada por cistocentese ecoguiada, após a realização do exame ecocardiográfico, com o animal colocado em decúbito dorsal e após prévia desinfeção da região pélvica. A amostra foi armazenada a temperatura de refrigeração (4°C) até análise, dividida em 3 alíquotas de 1 ml cada.

3.8. Urianálise e urocultura

A urianálise tipo II consistiu numa primeira etapa, no exame físico-químico da amostra, com a apreciação de um conjunto de parâmetros [Exame físico: densidade urinária específica (DUE), aspecto macroscópico, cor, cheiro, presença de depósito e pH; Exame químico: urobilinogénio, bilirrubina, hemoglobina, sangue, glucose, corpos cetónicos]. Com excepção da avaliação da densidade urinária (avaliada por meio de refractómetro manual), todos parâmetros foram avaliados por bioquímica seca, com recurso às tiras de urina Siemens Multistix 10 SG®.

A amostra utilizada na realização da urina tipo II foi obtida após centrifugação de 1 ml de amostra de urina colhida por cistocentese (velocidade de 1500 rpm durante 10 minutos) com observação da presença de depósito e análise de sedimento, na existência deste.

Durante o exame de sedimento, considerou-se a presença de sedimento activo a existência de pelo menos 5 células (eritrócitos ou leucócitos) / campo de observação em 400x.

Para efeitos de determinação de RPCU foram descartadas todas as amostras com hematúria macroscópica (> 200 eritrócitos/campo 400 x) e presença de piúria (>5 leucócitos/campo de 400x).

Em paralelo realizou-se o RPCU e urocultura das referidas amostras. As mesmas efectuaram-se em meios de agar-sangue 5% (bioMérieux®) com sementeira através de ansas calibradas de 10 µL com esgotamento do meio de cultura. Ficaram em estufa a 37° C com avaliações periódicas às 24 e 48H para deteção de crescimento de UFC's (unidades formadoras de colónias). A urocultura positiva foi considerada motivo de invalidação dos valores de RPCU.

3.9. Estadiamento da DRC

Com base na concentração plasmática de creatinina, no valor do RPCU e nas medições de PAS obtidas, foi feito o estadiamento e sub-estadiamento da doença renal de cada gato do grupo DRC, seguindo a metodologia IRIS (Anexo 3).

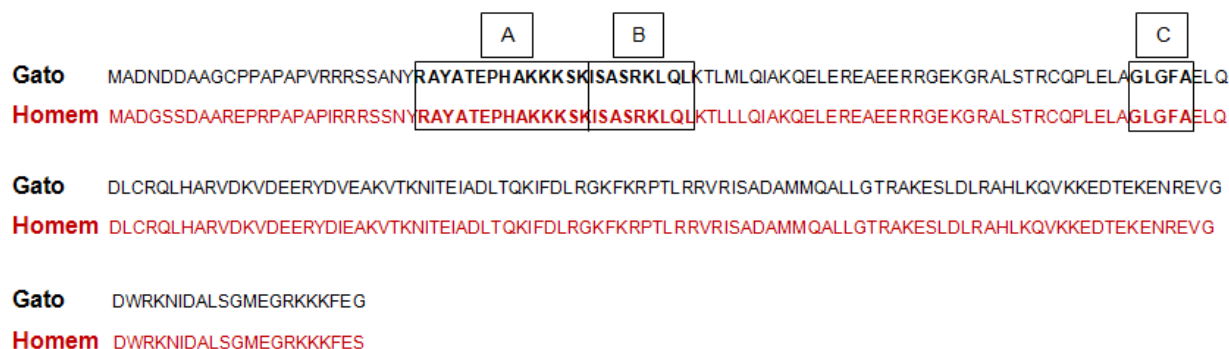
3.10. Medição da troponina cardíaca I (cTnI)

Os valores séricos de troponina cardíaca I foram determinados com recurso a um imuno-ensaio ultrasensível comercializado pela Siemens, o ADVIA Centaur cTnI Ultra®. Trata-se de um teste realizado em equipamento fechado próprio, o ADVIA CentaurXP Immunoassay System®. Para o efeito o autor recorreu ao apoio dos laboratórios Dr. Joaquim Chaves (laboratório de análises clínicas de Lisboa), que prontamente disponibilizou o equipamento previamente calibrado para a realização das medições.

O ensaio consiste num método quimioluminescente, com utilização de dois anticorpos murinos contra os epítomos correspondentes às sequências 41-49 a.a. e 87-91 a.a. e um terceiro anticorpo rastreador caprino marcado com um éster de acrinídio direccionado à

sequência aminoacídica 27 - 40 a.a. (Figura 4). O limite inferior de detecção do teste é de 0,006 ng/ml. (Panteghini *et al.*, 2004; Apple & Murakami, 2005) e foi previamente validado o seu uso em soro de felídeo doméstico por Langhorn *et al.*, 2013.

Figura 4. Sequência aminoacídica da troponina cardíaca I (cTnI) da espécie humana (*Homo sapiens*) e felídea (*Felis catus*). (Langhorn *et al.*, 2013).



Legenda: As 3 caixas, identificadas com as letras “A”, “B” e “C” correspondem às sequências dos epítomos reconhecidos pelos anticorpos do teste ADVIA Centaur cTnI Ultra®, concretamente os epítomos “B” (41-49) e “C” (87-91), ambos reconhecidos pelos anticorpos de captura e a região assinalada pela caixa “A” o epítomo do anticorpo de detecção.

3.11. Determinação da capacidade antioxidante total (TAC)

A determinação da TAC foi realizada por meio de uma reação colorimétrica baseada na transferência de electrões, concretamente o método CUPRAC, com determinação de absorvências das amostras a um comprimento de onda de 490 nm. Os valores foram expressos em micromolar de equivalentes redutores de cobre (μM ERC), após extrapolação dos equivalentes de ácido úrico (mM), a partir da curva de calibração também obtida. Para o efeito foi utilizado o kit Oxiselect TAC assay® da Cellbiolabs, com determinação da absorvência das amostras em espectrofotómetro SpectraMAX 340®.

3.12. Ecocardiografia

Imediatamente após o exame físico completo, os animais foram encaminhados para a sala de ecografia para realização de ecocardiograma. Com o consentimento dos proprietários, todos eles foram tricotomizados a nível das axilas esquerda e direita, entre o 3º e 6º espaço intercostais. Todos os exames ecocardiográficos foram realizados pelo mesmo médico-veterinário com formação em ecocardiografia. Nenhum animal foi sedado ou tranquilizado.

O exame ecocardiográfico foi realizado com recurso ao ecógrafo Vivid S6® e sonda transdutora 10S® (4-11,5 MHz), GE Healthcare. Durante o exame, cada animal foi colocado, primeiro em decúbito lateral direito e posteriormente lateral esquerdo. Na primeira posição foram efectuados os cortes para-esternal transversal (eixo menor) e longitudinal (eixo maior)

direito, no segundo, o corte apical esquerdo com visualização das 4 câmaras cardíacas. O exame ecocardiográfico foi adaptado do protocolo praticado no hospital escolar e que incluiu uma avaliação em modo 2D, modo M e doppler pulsátil e espectral para despiste de eventual doença cardíaca em curso. Relativamente às medições efectuadas, o diâmetro do átrio esquerdo (AE) e da aorta (Ao) para o cálculo do rácio AE/Ao foram obtidos em modo 2-D. Este último foi calculado com base na fórmula:

$$AE/Ao = AE(mm)/Ao(mm)$$

Em modo M realizou-se a medição da espessura do septo interventricular em diástole (SIVd), septo interventricular em sístole (SIVs), diâmetro do ventrículo esquerdo em diástole (DVEd), diâmetro do ventrículo esquerdo em sístole (DVEs), parede livre do ventrículo esquerdo em diástole (PLVEd), parede livre do ventrículo esquerdo em sístole (PLVEs) e fração de encurtamento (FE). A fração de encurtamento, expressa em percentagem (%), foi calculada de acordo com a fórmula:

$$FE(\%) = (DVEd - DVEs)/DVEd$$

4. Análise estatística dos dados

O registo dos dados relativos aos animais com DRC e aos animais aparentemente saudáveis do grupo controlo foi realizado em software Microsoft Office Excel 2010, enquanto a análise dos resultados foi realizada com o auxílio do programa *R* – versão 3.2.3 (10-12-2015), mais concretamente do pacote *R commander* – versão 2.2-3. Dado o tamanho reduzido da amostra de cada grupo em estudo ($n < 30$), o teste de Shapiro-Wilk foi o eleito de forma a avaliar a normalidade das amostras populacionais estudadas e o teste de Levene, o escolhido para testar a homogeneidade das variâncias. Sempre que se cumprissem os pressupostos da normalidade e da homogeneidade das variâncias, o teste t de Student para amostras independentes foi o eleito para avaliar diferenças entre os valores médios dos parâmetros estudados. Quando se verificou a heterogeneidade de variâncias, aplicou-se a correção de Welch ao teste t de Student. Quando a normalidade das amostras não se verificou, utilizou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon, para avaliar diferenças entre os valores médios das variáveis em estudo. Apenas na avaliação dos valores de pressão arterial (PAS/PAD/PAM) e dos valores de TAC, em função do estadio IRIS, foi necessário recorrer ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, como alternativa ao teste de Anova *one-way*. Os resultados foram expressos em média \pm desvio-padrão e o nível de significância definido como $p < 0,05$. Foi ainda avaliado, a existência e grau de correlação

entre algumas das variáveis supracitadas, utilizando o coeficiente de Spearman, com nível de significância estabelecido em $p < 0,05$.

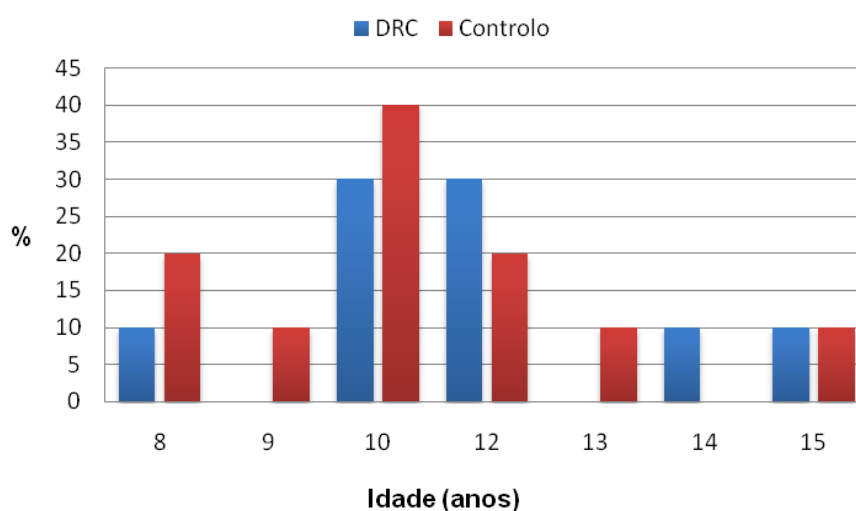
5. Resultados

5.1. Caracterização da amostra populacional

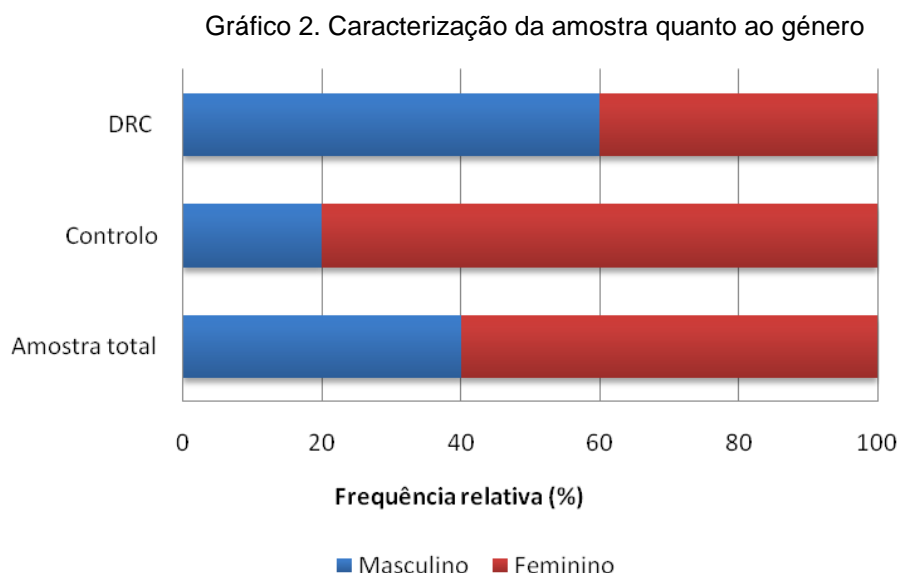
Este estudo compreendeu uma amostra total de 20 indivíduos da espécie *Felis catus*, de ambos os sexos, com idades compreendidas entre os 8 e os 15 anos, quase exclusivamente de raça indeterminada, à excepção de um felídeo de raça Persa (1/20; 0,05%).

Destes 20 animais, 10 apresentaram diagnóstico laboratorial de DRC (concentração plasmática de creatinina $>1,6$ mg/dL e DUE <1.035), com uma média de idades de $11,8 \pm 2,3$ anos, em contraste com os animais do grupo controlo que apresentaram uma média de idades de $10,2 \pm 1,7$ anos. A maioria dos animais quer do grupo controlo, quer do grupo DRC apresentaram-se distribuídos de forma praticamente semelhante pelos diferentes grupos etários, contudo com maior prevalência, na faixa etária dos 10 aos 12 anos de idade (Gráfico 1).

Gráfico 1. Histograma de idades, agrupado por grupo.



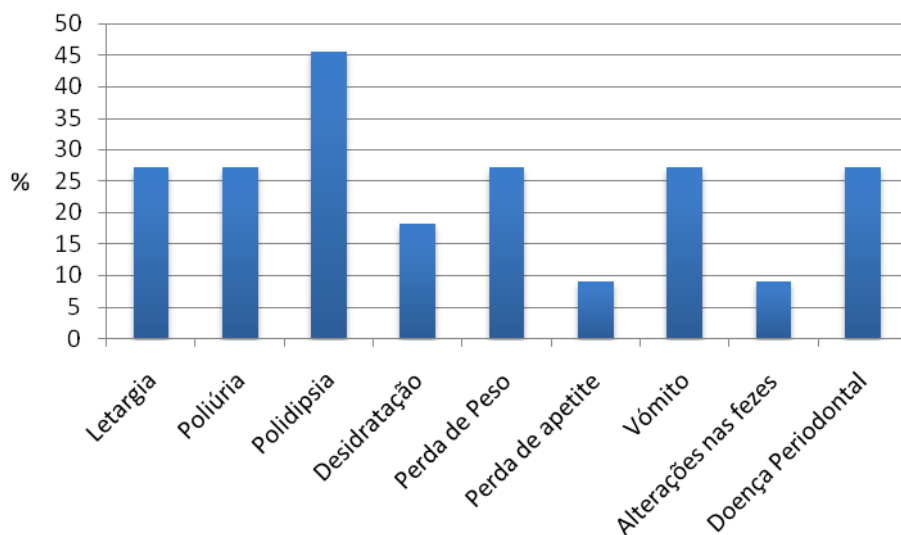
No que diz respeito ao género, na amostra populacional total verificou-se a presença de 60% fêmeas (12/20) e 40% machos (8/20). Nos felídeos com DRC, o sexo masculino representou 60% (6/10) e o feminino os restantes 40% (4/10). Os felídeos do grupo controlo, eram maioritariamente fêmeas (8/10; 80%), havendo apenas 2 gatos do sexo masculino (20%) (Gráfico 2). Relativamente ao peso dos animais em estudo, este foi em média $5,05 \pm 1,17$ kg (intervalo de 2,9 - 7,5 kg), com valores médios de $4,84 \pm 1,29$ kg para o grupo DRC e de $5,27 \pm 1,06$ kg para os animais do grupo controlo.



5.2. Sinais clínicos e alterações laboratoriais

Os sinais mais característicos de DRC (ex: Pu/Pd; perda de peso, anorexia) foram registados, tendo apresentado as seguintes frequências (Gráfico 3):

Gráfico 3. Distribuição dos sinais clínicos apresentados com maior frequência durante o acto de consulta.



O sinal clínico relatado com maior frequência nos animais estudados foi a polidipsia (45,5%). Em contraste os menos observados foram as alterações no apetite (ex: anorexia ou apetite mais selectivo) (9%) e nas fezes (ex:diarreia) (9%).

Relativamente às alterações laboratoriais determinadas (Tabela 10 e 11), como seria de esperar, os gatos do grupo DRC apresentaram em média concentrações de ureia e creatinina superiores às do grupo controlo e com excepção de três animais, que apresentaram concentrações de creatinina de 1,38 mg/dL; 1,22 mg/dL; 1,51 mg/dL e ureia de 80,3 mg/dL; 56,1 mg/dL; 73 mg/dL respectivamente, todos eles se encontravam azotémicos (concentração de creatinina >1,6 mg/dL) nos dias em que foram realizadas as colheitas das respectivas amostras de sangue. Também ao nível da densidade urinária se registaram diferenças entre os dois grupos, espectáveis em função do diagnóstico previamente realizado, com o grupo DRC a apresentar em média uma DUE de 1.022. Já no grupo controlo, com a excepção de todos eles terem apresentado DUE>1.050, não foi possível descriminá-los mais, fruto das limitações do aparelho utilizado.

Tabela 10. Valores médios de cada um dos parâmetros bioquímicos analisados em cada grupo.

Bioquímicas	Controlo	DRC
Creatinina (mg/dL)	1,31 ± 0,19	2,07 ± 0,62
Ureia (mg/dL)	54,50 ± 8,27	80,51 ± 19
Fósforo inorgânico (mg/dL)	4,35 ± 0,59	4,36 ± 1,01

Tabela 11. Valores de densidade urinária média em cada um dos grupos analisados.

Urianálise tipo II	Controlo	DRC
Densidade urinária*	>1.050	1.022 ± 0.007

* Grupo controlo apenas caracterizado com DUE>1.050 (limite máximo de leitura do refractómetro)

5.2.1. Classificação IRIS dos animais

Seguindo as normas de classificação da DRC propostas pela IRIS, após estadiamento com base na concentração plasmática de creatinina e sub-estadiamento pela presença de proteinúria e determinação dos valores de pressão arterial, foi possível obter a seguinte estratificação (Gráfico 4 e 5; Tabela 12 e 13).

Gráfico 4 e 5. Frequência de animais em cada estadio de DRC, de acordo com o método IRIS (esquerda); Frequência de animais de acordo com o sub-estadio com base na proteinúria e destruição dos mesmos dentro de cada estadio (direita).

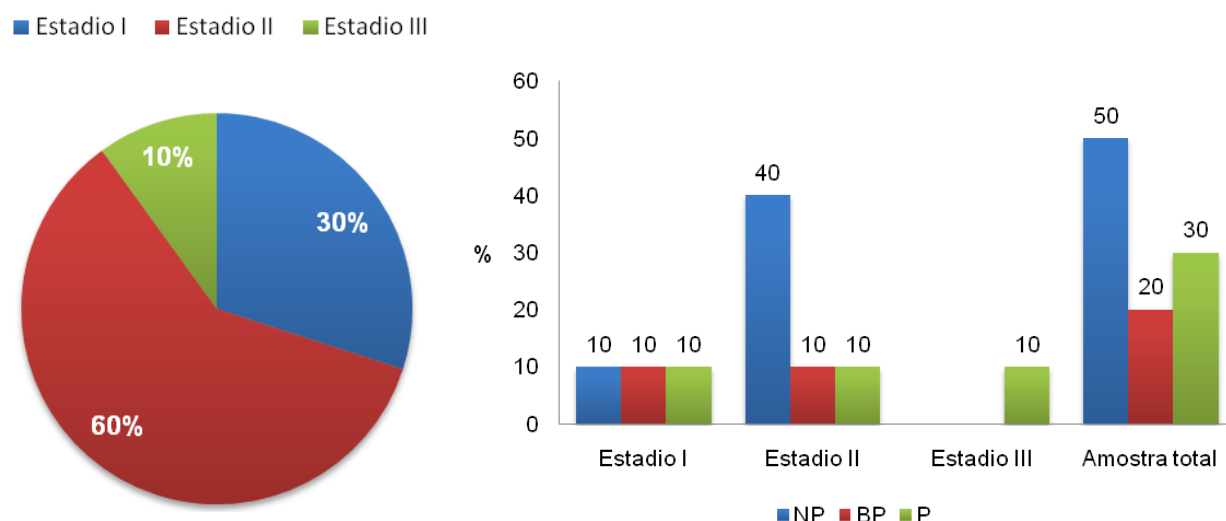


Tabela 12 e 13. Estadiamento por concentração plasmática de creatinina (esquerda); Sub-estadiamento em função da proteinúria (direita).

	N	Conc. Creatinina (mg/dl)	Sub-estadio	N	RPCU médio
Estadio I	3	1,37 ± 0,14	Não proteinúrico	5	0,08 ± 0,03
Estadio II	6	2,23 ± 0,30	Border line	2	0,23 ± 0,05
Estadio III	1	3,24	Proteinúrico	3	0,44 ± 0,04

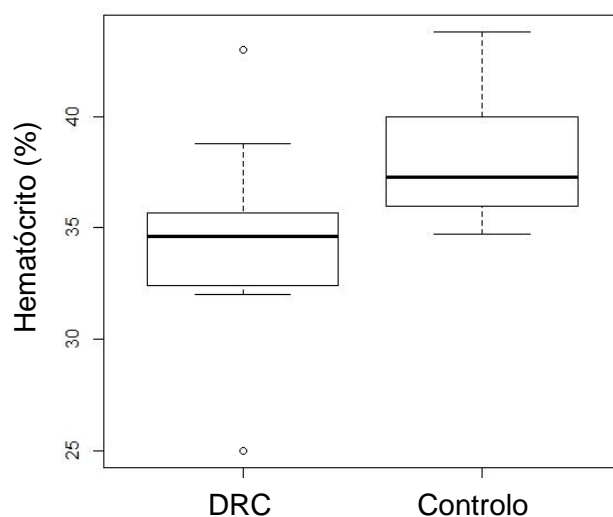
A maioria dos felídeos presentes no grupo DRC encontrava-se em estadio II (60%), dos quais 66,6% (4/6) eram do sexo masculino. A mesma percentagem, mas de fêmeas, apresentou DRC em estadio I (66,6%), porém numa amostra de apenas três animais. Quanto ao animal solitário em estadio III, este pertenceu ao género masculino.

Relativamente ao sub-estadio e segundo o RPCU, metade dos gatos na amostra do grupo DRC eram “não proteinúricos” (50%). Destes, 60% eram do género feminino (3/5) e os restantes do género masculino (2/5). Distribuição diferente verificou-se para o sub-estadio “Proteinúrico”, onde a totalidade da amostra (três animais) era do género masculino. Os dois gatos em sub-estadio “Border line” pertenceram cada um aos géneros masculino e feminino (50%).

5.2.2. Hematócrito

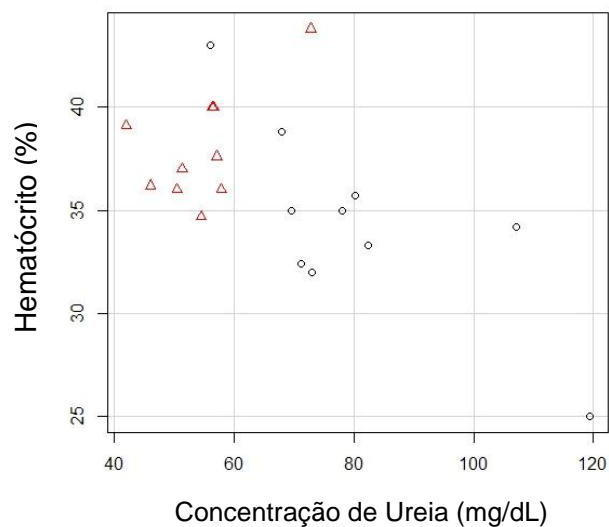
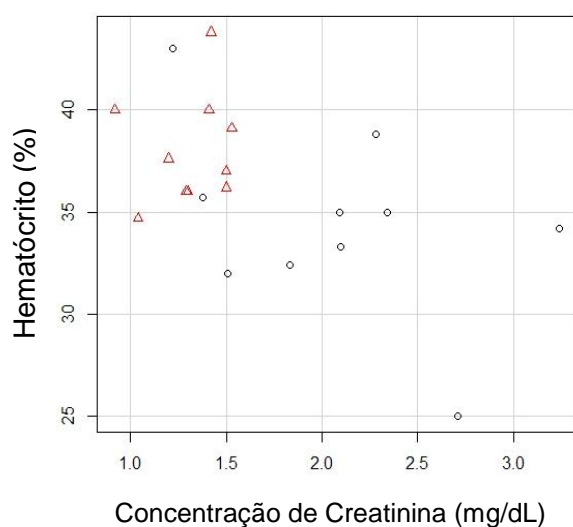
Os gatos do grupo DRC apresentaram em média valores de hematócrito inferiores aos gatos saudáveis do grupo controle, com $34,44 \pm 4,66 \%$ e $38,04 \pm 2,71 \%$, respectivamente (Gráfico 6).

Gráfico 6. Distribuição dos valores de hematócrito (%) nos dois grupos em estudo



Esta diferença verificada entre os dois grupos mostrou-se estatisticamente significativa ($p < 0,05$; Teste de Wilcoxon), e parece ser explicada pela correlação inversa e estatisticamente significativa verificada entre o hematócrito e a concentração de creatinina ($r = -0,51$; $p < 0,05$) e a concentração de ureia ($r = -0,57$; $p < 0,01$) (Gráfico 7 e 8).

Gráfico 7 e 8. Variação dos valores de hematócrito (%) em função da concentração de creatinina (mg/dL) (esquerda) e ureia (direita).



Legenda: Δ Grupo Controlo ; \circ Grupo DRC

5.2.3. Pressão arterial

Os valores de PAS, PAD e PAM são apresentados na tabela 14. Não se registaram diferenças significativas entre os diferentes grupos em nenhuma das diferentes pressões avaliadas (PAS, PAD, PAM, respectivamente: $p = 0,10$; $p = 0,34$; $p = 0,19$; Teste de Kruskal-Wallis) (Tabela 14).

Tabela 14. Valores de pressão arterial apresentados pelos grupos em estudo.

	Controlo	DRC	Estadio I	Estadio II	Estadio III
PAS (mmHg)	127,5 \pm 11,3	138,1 \pm 13,4	129,0 \pm 8,2	143,7 \pm 14,1	132
PAD (mmHg)	82,2 \pm 7,1	85,1 \pm 5,9	84,3 \pm 5,1	86,7 \pm 6,2	78
PAM (mmHg)	98,1 \pm 7,7	102,2 \pm 5,7	100,7 \pm 6,1	104,3 \pm 4,8	94

5.2.4. Sub-estadiamento pela pressão arterial

O sub-estadiamento em função da pressão arterial (Tabela 15), nomeadamente da PAS, como já foi mencionado, tem atribuído um determinado risco de desenvolvimento de lesões de órgão alvo, o qual é maior quanto mais elevada for a PAS. Neste estudo, com exceção de um felídeo que apresentou valores de PAS sistematicamente acima dos 150 mmHg em duas sessões diferentes (valor médio de 172 mmHg), todos os animais foram sub-estadiados em “risco mínimo” de desenvolvimento de lesões de órgão alvo, com valores médios de PAS entre os 120 e os 142 mmHg.

Tabela 15. Sub-estadiamento em função da pressão arterial sistólica (PAS).

Sub-estadio	Risco de lesões órgão alvo	PAS	N	Valor médio (intervalo)
Normotensão	Mínimo	< 150 mmHg	9	134,3 mmHg (120–142 mmHg)
Hipertensão	Moderado	150 – 179 mmHg	1	172 mmHg

5.3. Ecocardiografia

Os parâmetros ecocardiográficos registados são apresentados na Tabela 15. Os resultados surgem apresentados como média \pm desvio padrão. Com exceção das medições PLVE_d (parede livre do ventrículo esquerdo em diástole), em corte transversal e DVE_s (diâmetro da câmara ventricular esquerda em sístole), em corte longitudinal, cujos valores médios dos dois grupos foram comparados pelo teste t de Student, as medições obtidas não seguiram uma distribuição normal, pelo que as diferenças entre os dois grupos foram analisadas através do teste de Wilcoxon (Tabela 16).

Tabela 16. Parâmetros avaliados durante o exame ecocardiográfico.

Parâmetro ecocardiográfico		Controlo	N	DRC	N	p-value	
Modo M	PLVEs (mm)	6,97 ± 0,95	10	7,30 ± 1,19	10	0,4246	
	Corte transversal	PLVEd (mm)	4,34 ± 0,66	10	4,24 ± 0,60	10	0,7218
		SIVs (mm)	7,80 ± 0,92	10	7,68 ± 1,13	10	0,5924
		SIVd (mm)	3,98 ± 0,56	10	4,17 ± 0,69	10	0,4094
		DVEs (mm)	8,22 ± 1,60	10	6,87 ± 0,96	10	0,0446
		DVEd (mm)	16,20 ± 2,27	10	15,08 ± 2,40	10	0,3634
		FE (%)	50,27 ± 6,31	10	54 ± 6,58	10	0,2029
	Corte longitudinal	PLVEs (mm)	7,21 ± 1,01	10	7,18 ± 1,50	10	0,7323
PLVEd (mm)		4,48 ± 0,91	10	4,62 ± 0,78	10	0,6737	
SIVs (mm)		7,15 ± 0,79	10	7,43 ± 1,29	10	0,5943	
SIVd (mm)		3,98 ± 0,39	10	4,16 ± 0,64	10	0,2582	
DVEs (mm)		7,57 ± 2,33	10	6,63 ± 1,42	10	0,2956	
DVEd (mm)		14,83 ± 2,83	10	14,25 ± 2,33	10	0,8489	
FE (%)		51,45 ± 8,97	10	53,2 ± 7,63	10	0,7768	
Modo 2D		AE/Ao	1,32 ± 0,13	10	1,35 ± 0,18	10	0,6983

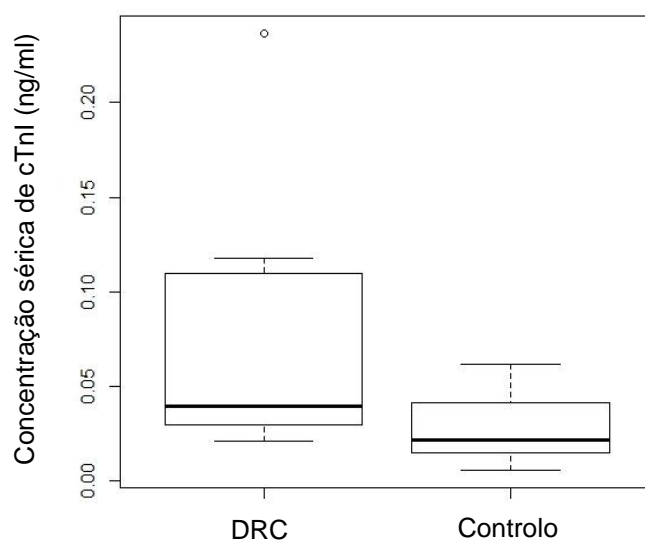
Legenda: “PLVEs” Parede livre do ventrículo esquerdo em sístole; “PLVEd” Parede livre do ventrículo esquerdo em diástole; “SIVs” Septo interventricular em sístole; “SIVd” Septo interventricular em diástole; “DVEs” Diâmetro do ventrículo esquerdo em sístole; “DVEd” Diâmetro do ventrículo esquerdo em diástole; “FE” Fração de encurtamento; “AE/Ao” Rácio átrio esquerdo/aorta; “N” – Tamanho da amostra. Nível de significância (p-value)<0,05. As encarnadas estão assinaladas as diferenças consideradas estatisticamente significativas.

A frequência cardíaca variou durante o exame ecocardiográfico, tendo apresentado valores médios ligeiramente superiores nos animais do grupo DRC, com 203 bpm (169 - 235 bpm) em oposição aos 192 bpm de frequência cardíaca média verificada no grupo controlo (155 - 216 bpm). Esta diferença não foi estatisticamente significativa (p= 0,27; Teste de Wilcoxon). De entre todas as medições ecocardiográficas realizadas, apenas se registou uma diferença estatisticamente significativa, ao nível do diâmetro da câmara ventricular esquerda em sístole (DVEs) no modo M (p<0,05), porém apenas em corte transversal (eixo menor).

5.4. Troponina cardíaca I (cTnI)

O grupo DRC apresentou uma concentração média de cTnI de $0,076 \pm 0,069$ ng/ml, em contraste com o valor médio de $0,029 \pm 0,019$ ng/ml obtido no grupo controlo. Verifica-se uma variação de valores intra-grupo considerável (CV de 91% e 66% para o grupo DRC e controlo, respectivamente), explicável pelo reduzido número de animais que compõem cada um dos grupos ($n=11$ vs $n=9$) e para a qual também contribuiu, no caso do grupo DRC, a concentração de cTnI de 0,237 ng/ml registada num dos animais da amostra (Gráfico 9).

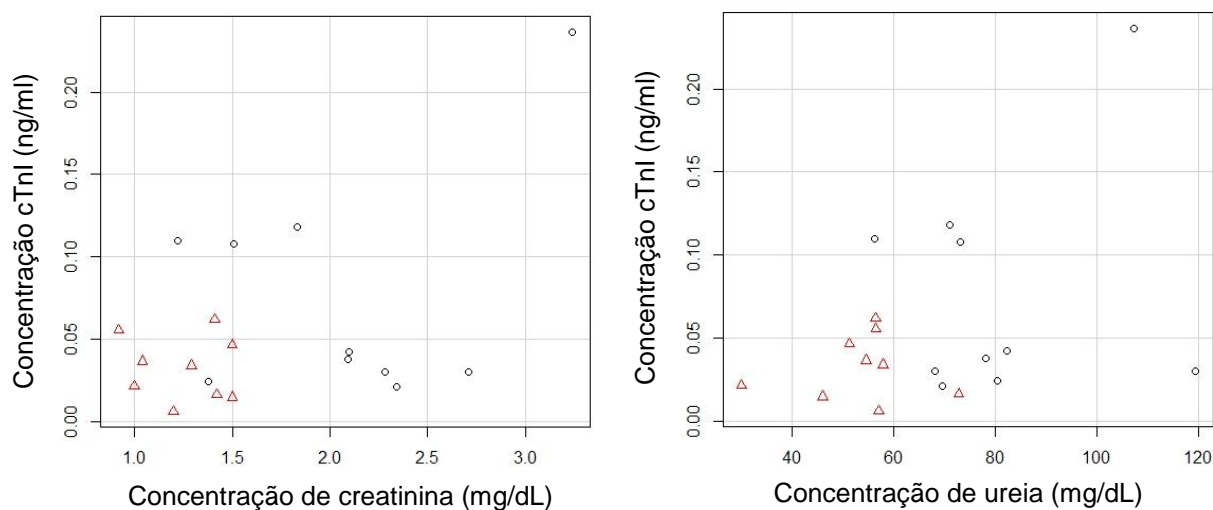
Gráfico 9. Distribuição das concentrações séricas de troponina cardíaca I (cTnI) nos dois grupos em estudo.



Apesar do reduzido tamanho da amostra e do elevado coeficiente de variação, a diferença entre os valores médios de cTnI registada nos dois grupos mostrou-se estatisticamente significativa ($p<0,05$; Teste t de Student).

Como o critério de inclusão dos animais num dos dois grupos em estudo foi a presença ou ausência de DRC, pesquisou-se a existência de uma eventual correlação entre os marcadores de função renal utilizados (ureia e creatinina) e a cTnI, na tentativa de associar esta diferença a uma eventual diminuição da excreção urinária (Gráfico 10 e 11).

Gráfico 10 e 11. Variação dos valores séricos de troponina cardíaca em função dos valores séricos de creatinina (esquerda) e de ureia (direita).



Legenda: △ Grupo Controlo ; ○ Grupo DRC

Não se registou qualquer correlação estatisticamente significativa entre os valores de cTnI e as concentrações de creatinina ($r = 0,15$; $p = 0,53$) e de ureia ($r = 0,17$; $p = 0,48$).

5.4.1. Influência da idade

Não obstante da diferença de idades verificada entre os dois grupos, os valores séricos de cTnI não apresentaram correlação com a idade ($r = 0,26$; $p = 0,25$), pelo que esta não constituiu um factor de variação dos resultados de cTnI.

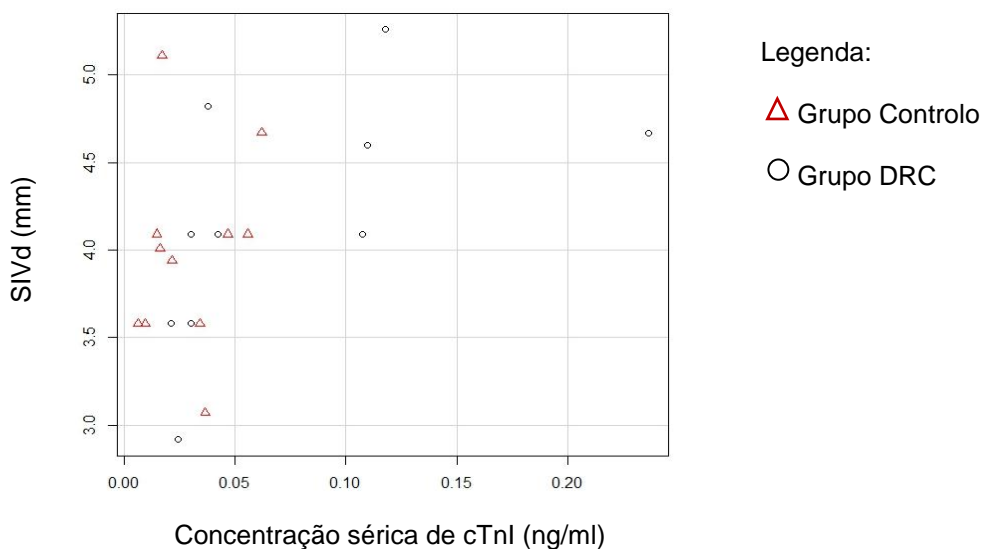
5.4.2. Influência do género

Apesar da diferença verificada na proporção de géneros masculino e feminino entre ambos os grupos, os valores séricos de cTnI não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em função do género ($p = 0,41$; Teste t de Student com correção de Welch). Registaram-se valores médios de $0,045 \pm 0,034$ ng/ml para o género feminino ($n = 12$) e de $0,070 \pm 0,075$ ng/ml para o género masculino ($n = 8$).

5.4.3. Relação com parâmetros ecocardiográficos

Após pesquisa de possíveis correlações entre valores de concentração sérica de cTnI e os diferentes parâmetros ecocardiográficos avaliados, apenas se verificou a existência de uma correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$), positiva e forte ($r = 0,69$; $p < 0,01$), entre os valores médios de cTnI e a espessura do septo interventricular em diástole (SIVd), avaliada em corte transversal (Gráfico 12).

Gráfico 12. Variação da concentração sérica de cTnI (ng/mL) em função da espessura do septo interventricular em diástole – SIVd (mm), avaliada em corte transversal.

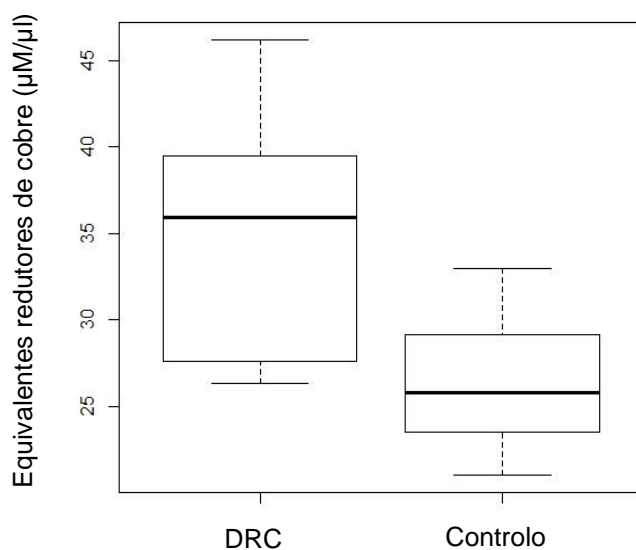


Não se verificaram quaisquer outras correlações estatisticamente significativas entre os valores de cTnI e os diferentes parâmetros ecocardiográficos avaliados.

5.5. Capacidade Antioxidante Total (TAC)

O valor médio de TAC obtido no grupo DRC foi de $35,26 \pm 7,04$ μM ERC por unidade de volume (μl), enquanto que no grupo controlo se registou um valor médio de $26,44 \pm 3,58$ μM ERC/ μl . Com excepção de um *outlier* verificado no grupo DRC, não houve uma grande dispersão de valores dentro de cada grupo, com CV de 20% e 14% para os grupos DRC e Controlo, respectivamente (Gráfico 13).

Gráfico 13. Distribuição dos valores de capacidade antioxidante total (expresso em equivalentes redutores de cobre por unidade de volume, $\mu\text{M}/\mu\text{l}$) nos dois grupos em estudo.



A diferença verificada entre os dois grupos foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$; teste de Wilcoxon).

Estratificando os resultados do grupo DRC, de acordo com o sistema de classificação IRIS, os valores médios de TAC obtidos foram os seguintes (Tabela 17):

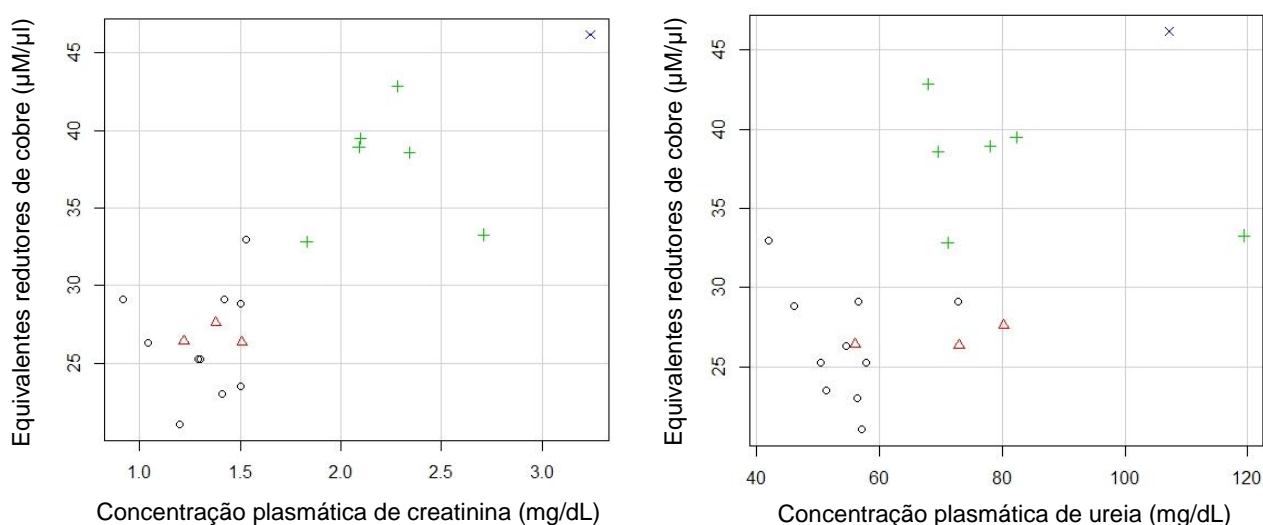
Tabela 17. Concentração média de equivalentes redutores de cobre (TAC) por estadio, em comparação com o grupo controle.

Grupo	Valor médio \pm desvio padrão ($\mu\text{M ERC}/\mu\text{l}$)	CV (%)	N
Controlo	26,44 \pm 3,57	15,6	10
Estadio I	26,79 \pm 0,71	11,8	3
Estadio II	37,67 \pm 3,89	16,4	6
Estadio III	46,17	0	1

Legenda: CV – Coeficiente de Variação; N – tamanho da amostra.

Por comparação com o grupo controlo, apenas a partir do estadio II se notam diferenças consideráveis nos valores médios de TAC, com os gatos a apresentarem valores médios sucessivamente maiores do estadio I ao III. As diferenças entre os valores médios dos diferentes estadios foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$; Teste de Kruskal-Wallis). Esta tendência crescente dos valores de TAC em função do estadio poderá ser explicada pela relação forte e positiva encontrada entre os valores de TAC e os valores plasmáticos de creatinina ($r = 0,76$; $p < 0,01$) e de ureia ($r = 0,53$; $p < 0,05$) (Gráficos 14 e 15).

Gráfico 14 e 15. Variação da concentração sérica de TAC em função da concentração de creatinina (mg/dL) (esquerda) e de ureia (mg/dL) (direita), de acordo com o estadio IRIS.



Legenda: ○ Controlo; △ Estadio I; + Estadio II; × Estadio III

5.5.1. Relação entre a TAC e os parâmetros ecocardiográficos

Não foi encontrada qualquer tipo de correlação estatisticamente significativa entre os valores de TAC e os diferentes parâmetros ecocardiográficos.

5.5.2. Relação entre a TAC e os valores de cTnI

Não foi encontrada qualquer tipo de correlação estatisticamente significativa entre os valores de TAC e as concentrações de cTnI ($r=0,18$; $p=0,47$)

6. Discussão

No que respeita aos valores séricos de troponina cardíaca, os resultados deste estudo estão de acordo com o verificado por Porciello *et al.* (2008), acrescido do facto de ter sido realizado também o despiste de doença cardíaca através de exame ecocardiográfico, algo que não havia sido feito no estudo desses autores. Os valores de cTnI agora obtidos são contudo mais baixos que as concentrações médias apresentadas no outro estudo de cTnI em gatos com DRC. Talvez o facto de os animais aí reunidos não terem sido sujeitos a rastreio ecocardiográfico e o facto de se encontrarem sobretudo em estádios de DRC avançada, possa ter contribuído para esta disparidade de resultados. À semelhança do verificado nesse estudo, também aqui os valores de cTnI não apresentaram qualquer correlação com as concentrações séricas de creatinina e ureia. Como tal, apesar de a troponina apresentar algum grau de excreção urinária, os valores superiores verificados no grupo DRC não podem ser explicados apenas pela diminuição da TFG. Contudo a ausência de alterações ecocardiográficas visíveis também não permite associar este aumento a lesões cardíacas no momento da colheita.

Langhorn *et al.* (2014), num estudo que envolveu gatos com CMH, demonstraram uma correlação moderada entre a concentração de cTnI e cTnT e a espessura da parede livre do ventrículo esquerdo em diástole. No mesmo estudo os valores de cTnI apresentaram-se igualmente relacionados com o tempo de sobrevivência após o diagnóstico de CMH. No presente estudo não foi possível de identificar correlação estatisticamente significativa entre a cTnI e a espessura da parede livre do ventrículo esquerdo, porém foi possível de identificar uma forte correlação positiva de cTnI com a espessura do septo interventricular em diástole.

Uma vez que o presente estudo é de carácter prospectivo, com o objectivo de avaliar o valor de prognóstico dos marcadores cTnI e TAC para o desenvolvimento de lesões de hipertrofia ventricular esquerda em animais com DRC, foi definido como critério de inclusão que nenhum dos animais apresentasse lesões focais ou difusas de hipertrofia. Assim procedeu-se à avaliação de parâmetros ecocardiográficos, nomeadamente o nível do ventrículo esquerdo, para excluir animais com afeção cardíaca em curso, particularmente a CMH.

Nesta avaliação apenas o diâmetro do ventrículo esquerdo em sístole (DVEs) apresentou uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. Como esta diferença apenas se registou em corte transversal e os valores de ambos os grupos se encontram dentro do considerado normal para a espécie (6 - 10 mm, com valor médio $8 \pm 1,6$ mm) (Pipers, Reef & Hamlin, 1979; Bonagura, Grady & Herring, 1985; Jacobs & Knight, 1985; Fox, Bond & Peterson, 1985; Moise & Dietz, 1986), não representa um dado clinicamente relevante, porque se trata de um parâmetro relacionado com o peso corporal e porque os animais do grupo controlo apresentaram em média um peso corporal superior aos gatos do grupo DRC, o que assim poderá explicar este dado estatístico.

Todas as restantes medições se encontram, em média, dentro dos intervalos descritos para a espécie (Pipers, Reef & Hamlin, 1979; Bonagura, Grady & Herring, 1985; Jacobs & Knight, 1985; Fox, Bond & Peterson, 1985; Moise & Dietz, 1986).

Segundo o nosso conhecimento, este foi o segundo estudo a aplicar o método CUPRAC para determinação da TAC em felídeos domésticos e o primeiro em felídeos com DRC (Timmons & Webb, 2016). O método mostrou-se bastante prático, de fácil utilização, com poucas etapas e de rápida execução. Contrariamente ao verificado nos três estudos já realizados em gatos com DRC, cujos métodos foram o ORAC e o ABTS, registaram-se valores de TAC superiores no grupo DRC comparativamente ao grupo controlo. No estudo de Keegan & Webb (2010), cujo método aplicado foi o ABTS e já Yu & Pateau-Robinson (2008) que utilizou o ORAC, verificaram um esgotamento das defesas antioxidantes no grupo de animais com DRC, sugestivo da existência de um estado pró-oxidante associado à DRC. Porém, mais recentemente Zel *et al.* (2014) que utilizaram dois métodos de avaliação do stress oxidativo, ambos destinados a avaliar a actividade antioxidante, não verificou diferenças estatisticamente significativas nos valores de TAC. No segundo método, a avaliação da actividade enzimática da GPH-Px plasmática, um dos principais sistemas antioxidantes do rim e que no Homem se encontra reduzido na presença de DRC, contrariamente ao expectável apresentou valores superiores no grupo DRC, concretamente no grupo de gatos com DRC em estadio final (estadio IRIS IV). Segundo eles, tais resultados poder-se-ão dever a uma particularidade dos mecanismos antioxidantes nos felídeos domésticos, porém estas afirmações carecem de base científica e requerem um estudo mais aprofundado e completo, com envolvimento de uma amostra de maiores dimensões e a medição de mais do que um índice de stress oxidativo.

Limitações e obstáculos encontrados durante o estudo

Uma das principais limitações que esteve presente ao longo do estudo foi a dificuldade em incluir na amostra populacional animais que cumprissem os critérios estabelecidos. Apesar de se tratar de uma afeção com prevalência considerável entre a população felídea geriátrica, denotou-se uma dificuldade acima do expectável para reunir uma amostra de dimensão razoável, capaz de conferir o poder estatístico desejado aos testes estatísticos empregues. Embora os critérios de exclusão definidos tenham limitado a integração de muitos felídeos neste estudo, houve outros factores que igualmente contribuíram para este tamanho de amostra reduzido. A inexistência de uma base de dados organizada segundo o diagnóstico de cada animal dificultou e tornou bastante morosa a pesquisa de felídeos geriátricos regularmente acompanhados no hospital escolar, com diagnóstico de DRC e o seu contacto. A principal fonte de gatos reunidos durante o estudo surgiu precisamente do convite aos proprietários, a maioria deles com gatos já com DRC previamente diagnosticada. Igualmente importante, mas sem a eficácia prevista, foi a campanha de rastreios de DRC. Apesar da divulgação da mesma por meio da distribuição de folhetos, no *website* do hospital escolar e ainda através das redes sociais, o nível de adesão ficou muito aquém do expectável, tendo-se apenas ficado pela meia centena ($n=50$) de rastreios realizados. Durante os mesmos foi possível constatar um nível de conhecimento muito reduzido desta entidade mórbida, em alguns casos até totalmente desconhecida pelos proprietários, o que em parte poderá explicar o insucesso da tentativa de aliciamento dos proprietários com os preços reduzidos praticados na campanha de rastreios. Por aqui foi possível de verificar que existe uma maior necessidade de sensibilizar os proprietários para um acompanhamento mais regular dos animais geriátricos, com a realização de um painel mínimo de análises que permita fazer o despiste de um conjunto de afeções mais prevalentes nesta faixa etária.

Apesar de ter sido possível caracterizar a amostra do grupo DRC quanto ao estadiamento IRIS, nem sempre foi possível satisfazer todos os requisitos propostos por este sistema de classificação, nomeadamente o cumprimento do período de jejum anterior à medição de creatinina plasmática em alguns dos gatos.

Com exceção de um gato (PAS:172 mmHg), nenhum outro apresentou valores de pressão arterial sistólica acima dos 160 mmHg, intervalo de valores considerado como sub-estadio de “risco moderado” de lesão de órgãos alvo. Apesar de aconselhado nesse sentido, não foi possível a realização de despiste de lesões oculares em consulta de oftamologia.

Outra limitação verificada foi a ausência de avaliação da actividade enzimática da ALT em todos os felídeos integrantes deste estudo, que implicaria um custo adicional à já extensa lista de parâmetros analisados. Apenas foi feita a sua medição num felídeo geriátrico (8 anos), que no âmbito da consulta de rastreio apresentou um ligeiro desconforto à palpação

abdominal e que mais tarde acabou por ser excluído, precisamente por apresentar elevação das enzimas hepáticas (ALT e GGT) e alterações da ecogenicidade hepática compatíveis com lesões de colangite/colangiohepatite.

7. Conclusão

Este será um dos primeiros estudos a avaliar a concentração sérica de troponina cardíaca I em felídeos com DRC, a par da realização de ecocardiografia para despiste de lesões cardíacas (ex:CMH) e que incluiu apenas felídeos sem alterações sugestivas de doença cardíaca em curso.

Embora o reduzido tamanho da amostra retire algum poder estatístico aos testes realizados, à semelhança do que se havia verificado em outros estudos semelhantes, os gatos com DRC apresentaram concentrações séricas de cTnI superiores às obtidas nos gatos do grupo controlo. Por não estar relacionada com indicadores indirectos de função renal como a creatinina e ureia, tal como em outros estudos, torna-se difícil associar esses valores a apenas uma diminuição da função renal, mas antes à existência de uma lesão cardíaca sub-clínica associada à DRC.

O facto de aparentemente existir algum grau de disfunção diastólica, em outros estudos, é indicador de que poderá de facto existir uma relação fisiopatológica entre a DRC e o aparecimento de lesões cardíacas sub-clínicas, com alteração da função diastólica, a qual poderá ocorrer a vários níveis pelos efeitos crónicos da activação do SRAA, ou pela acção deletéria de algumas toxinas urémicas (ex: PTH e sulfato de indoxil).

Uma das limitações deste estudo caiu sobretudo na pouca prática em métodos de avaliação da função sistólica e diastólica, nomeadamente na modalidade de doppler tecidular, que, à semelhança do que haviam verificado Simpson *et al.* (2009), poderia desvendar algum grau e potencial disfunção diastólica secundária a lesões sub-clínicas do miocárdio. Assim, além da proposta de reavaliação dos animais que integraram este estudo, a fim de estudar um eventual valor de prognóstico dos indicadores cTnI e TAC para o aparecimento de lesões de hipertrofia ventricular esquerda, pensamos que também deverá ser realizado um estudo completo da função diastólica do ventrículo esquerdo, incluindo a avaliação do perfil e velocidade de fluxo da veia pulmonar, fluxo transmitral e a análise dos índices de doppler tecidular a nível das paredes do ventrículo esquerdo (parede livre e septal).

Este estudo foi apenas o segundo a avaliar os valores de TAC, pelo método CUPRAC, em felídeos e o primeiro em felídeos com DRC, com resultados interessantes, demonstrando aparentemente um maior poder antioxidante no grupo de gatos com DRC, á semelhança do que Zel *et al.* (2014) haviam descrito, embora com um outro indicador, a GPH-Px plasmática. Estes resultados são sugestivos de um reforço antioxidante em função de um estado pró-oxidante existente em gatos com DRC.

Contudo, serão necessários mais estudos, que envolvam uma amostra de maiores dimensões, representativa de todos os estadios IRIS e com a avaliação de mais índices de stress oxidativo, até se poder ter a certeza de tais afirmações, que por enquanto permanecem apenas como um achado estatístico.

IV. Bibliografia

- Abbate, M., Zoja, C., Corna, D., Capitanio, M., Bertani, T. & Remuzzi, G. (1998). *In progressive nephropathies, overload of tubular cells with filtered proteins translates glomerular permeability dysfunction into cellular signals of interstitial inflammation.* Journal of the American Society of Nephrology, 9: 1213 – 1224.
- Abbate, M., Zoja, C., Rottoli, D., Corna, D., Tomasoni, S. & Remuzzi, G. (2002). *Proximal tubular cells promote fibrogenesis by TGF-beta1-mediated induction of peritubular myofibroblasts.* Kidney International, 61: 2066 - 2077.
- Agarwal, R. (2003). *Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade.* American Journal of Physiology: Renal Physiology, 284: F863 - 869.
- Alhaj, E., Alhaj, N., Rahman, I., Niazi, T.O., Berkowitz, R., & Klapholz, M. (2013). *Uremic cardiomyopathy: an underdiagnosed disease.* Congestive Heart Failure, 19: E40–E45.
- Apple, F.S. & Murakami, M.M. (2005). *Cardiac troponin and creatine kinase MB monitoring during in-hospital myocardial reinfarction.* Clinical Chemistry, 51 (2): 460-463.
- Antoniucci, D.M., Yamashita, T. & Portale, A.A. (2006). *Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men.* Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 91 (8): 1187 – 1196.
- Arata, S., Ohmi, F., Mizukoshi, K., Baba, K., Setoguchi, O. & Tsujimoto, H. (2005). *Urinary transforming growth factor-beta1 in feline chronic renal failure.* The Journal of Veterinary Medical Science, 67: 1253-1255.
- Aresu, L., Zanatta, R., Pregel, P., Caliarì, D., Tursi, M., Valenza, F. & Tarducci, A. (2009). *Bilateral juvenile renal dysplasia in a Norwegian Forest Cat.* Journal of Feline Medicine and Surgery, 11 (4): 326-9.
- Arthur, J.R. (2000). *The glutathione peroxidases.* Cellular and Molecular Life Sciences, 57: 1825 - 1835.
- Asp, A.M., Wallquist, C., Rickenlund, A., Hylander, B., Jacobson, S.H., Caidahl, K. & Eriksson, M.J. (2015). *Cardiac remodelling and functional alterations in mild-to-moderate renal dysfunction: comparison with healthy subjects.* Clinical Physiology and Functional Imaging, 35 (3): 223-230.
- Avissar, N., Ornt, D.B., Yagil, Y., Horowitz, S., Watkins, R.H., Kerl, E.A., Takahashi, K., Plamer, I.S. & Cohen, H.J. (1994). *Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase.* American Journal of Physiology, 266: C367 - C375.
- Aydin, I., Bulbul, A., Avci, G.E. & Celik, H.A. (2009). *Serum oxidative status and adenosine deaminase activity in dogs with transmissible venereal tumor.* Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 53: 771-774.
- Azzi, A., Davies, K.J. & Kelly, F. (2004). *Free radical biology - terminology and critical thinking.* FEBS Letters, 558 (1-3): 2-6.

- Bailliff, N.L., Westropp, J.L., Nelson, R.W., Sykes, J.E., Owens S.D. & Kass, P.H. (2008). *Evaluation of urine specific gravity and urine sediment as risk factors for urinary tract infections in cats*. Veterinary Clinical Pathology, 37 (3): 317-322.
- Bagshaw, S.M., Hoste, E.A., Braam, B., Briguori, C., Kellum, J.A., McCullough, P.A. & Ronco, C.(2013). *Cardiorenal syndrome type 3: pathophysiologic and epidemiologic considerations*. Contributions to Nephrology, 182:137–157.
- Barber, P.J. & Elliott, J. (1998). *Feline chronic renal failure: calcium homeostasis in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995*. Journal of Small Animal Practice, 39: 108-116.
- Barber P.J. (2003). Diagnosis and management of chronic renal failure in cats. In Practice, 25: 306-313.
- Barreto, F.C., Barreto, D.V., Liabeuf, S., Meert, N., Glorieux, G., Temmar, M., Choukroun, G., Vanholder, R. & Massy, Z.A., (2009). *Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients*. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 4: 1551-1558.
- Bartges, J. (2012). Chronic kidney disease in dogs and cats. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 42: 669–692.
- Bartlett, P.C., Van Buren, J.W., Bartlett, A. & Zhou, C. (2010). *Case-control study of risk factors associated with feline and canine chronic kidney disease*. Veterinary Medicine International. Acedido em Junho 14, 2015, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2946592/pdf/VM12010-957570.pdf>
- Bartosz, G. (2003). *Total antioxidant capacity*. Advances in Clinical Chemistry, 37: 219 – 292.
- Baum, M., Schiavi, S., Dwarakanath, V. & Quigley, R. (2005). *Effect of fibroblast growth factor-23 on phosphate transport in proximal tubule*. Kidney International, 68 (3): 1148 – 1153.
- Baxter, K.J., Levy, J.K., Edinboro, C.H., Vaden, S.L. & Tompkins, M.B. (2012). *Renal disease in cats infected with feline immuno - deficiency virus*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 26: 238–243.
- Benzie, I.F. & Strain, J.J. (1996). *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay*. Analytical Biochemistry, 239 (1): 70 – 76.
- Benzie, I.F. & Strain, J.J. (1999). *Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration*. Methods in Enzymology, 299: 15 – 27.
- Bertazzolo, W., Toscani, L., Calcaterra, S., Crippa, L., Caniatti, M. & Bonfanti, U. (2003). *Clinicopathological findings in five cats with paw calcification*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 5: 11 - 17.
- Bjorman, C., Petzold, M., Venge, P., Farbemo, J., Fu, M.L. & Hammarsten, O. (2015). *High-sensitive cardiac troponin, NT-proBNP, hFABP and copeptin levels in relation to glomerular filtration rates and a medical record of cardiovascular disease*. Clinical Biochemistry, 48 (4-5): 302-307.

- Bobkova, I.N., Chebotareva, N.V., Kozlovskaya, L.V., Varshavskii, V.A. & Golitsyna, E.P. (2006). *Urine excretion of monocytic chemotactic protein-1 and transforming growth factor-beta1 as an indicator of chronic glomerulonephritis progression*. Ter Arkh, 78: 9 - 14.
- Bock, J.S. & Gottlieb, S.S. (2010). *Cardiorenal syndrome: new perspectives*. Circulation, 121: 2592–2600.
- Bonagura, J.D., Grady, M.R. & Herring, D.S. (1985). *Echocardiography: principles of interpretation*. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 15: 1177 – 1194.
- Boswood, A., Dukes-McEwan, J., Loureiro, J., James, R.A., Martin, M., Stafford-Johnson, M., Smith, P., Little, C & Attree, S. (2008). *The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease*. The Journal of Small Animal Practice, 49: 26–32.
- Bottari, N.B., Munhoz, T.D., Torbitz, V.D., Tonin, A.A., Anai, L.A., Semolin, L.M., Jark, P.C., Bollick, Y.S., Moresco, R.N., França, R.T., Lopes, S.T., Stefani, L.M., Tinucci-Costa, M. & Da Silva, A.S. (2015). *Oxidative stress in dogs with multicentric lymphoma: Effect of chemotherapy on oxidative and antioxidant biomarkers*. Redox Report: Communications in Free Radical Research, 20 (6): 267 – 274.
- Boyd, L., Langston, C., Thompson, K., Zivin, K. & Imanishi, M. (2008). *Survival in cats with naturally occurring chronic kidney disease (2000 –2002)*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 22: 1111-1117.
- Braam, B., Joles, J.A., Danishwar, A.H. & Gaillard, C.A. (2014) *Cardiorenal syndrome – current understanding and future perspectives*. Nature Reviews Nephrology, 10: 48–55.
- Brenner, B.M. (1985). *Nephron adaptation to renal injury or ablation*. American Journal of Physiology, 249: F324 - F337.
- Brown, S.A. (1998). *Management of feline chronic renal failure*. Waltham Focus, 8(3): 27-31.
- Brown, S.A. (2008). *Oxidative Stress and Chronic Kidney Disease*. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 38: 157–166.
- Brown, S., Atkins, C., Bagley, R., Carr, A., Cowgill, L., Davidson, M., Egner, B., Elliott, J., Henik, R., Labato, M., Littman, M., Polzin, D., Ross, L., Snyder, P. & Stepien, R. (2007). *ACVIM Consensus Statement- Guidelines for the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 21: 542-558.
- Brown, S.A., Brown, C.A. (1995). *Single-nephron adaptations to partial renal ablation in cats*. American Journal of Physiology (Regulatory, Integrative and Comparative Physiology), 269: R1002 - R1008.
- Buchanan, J.W. (1992). Causes and prevalence of cardiovascular disease. In: Kirk, R.W. & Bonagura, J.D. (Eds). *Current Veterinary Therapy XI: Small Animal Practice*. (pp. 647-654). Philadelphia, Pennsylvania, USA: WB Saunders.

- Bulteau, A.L., Szveda, L.I., Friguet, B. (2006). *Mitochondrial protein oxidation and degradation in response to oxidative stress and aging*. *Experimental Gerontology*, 41 (7): 653 – 657.
- Burnett, S.M., Gunawardene, S.C., Bringham, F.R., Juppner, H., Lee, H. & Finkelstein, J.S. (2006). *Regulation of C-terminal and intact FGF-23 by dietary phosphate in men and women*. *Journal of Bone and Mineral Research*, 21 (8): 1187 – 1196.
- Cao, G. & Prior, R.L. (1998). *Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum*. *Clinical Chemistry*, 44: 1309 – 1315.
- Chakrabarti, S. Syme, H.M. & Elliott, J. (2010). *Anemia predicts progression of chronic kidney disease in newly diagnosed azotemic cats* [Abstract]. ACVIM Congress 2010. Acedido em Junho 14, 2015, disponível em: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=4504717&pid=11311&>
- Chakrabarti, S., Syme, H.M. & Elliott, J. (2012). *Clinicopathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26: 275-281.
- Chakrabarti, S., Syme, H.M., Elliott, J. (2012a). *Urinary vascular endothelial growth factor as a prognostic marker in feline chronic kidney disease*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26: 1524.
- Chakrabarti, S., Syme, H.M., Brown, C.A. & Elliott, J. (2013). *Histomorphometry of feline chronic kidney disease and correlation with markers of renal dysfunction*. *Veterinary Pathology*, 50, 147–155.
- Chalhoub, S., Langston, C. & Eatroff, A. (2011). *Anemia of renal disease - what it is, what to do and what's new*. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13: 629–640.
- Cheng, F.P., Hsieh, M.J., Chou, C.C., Hsu, W.L., Lee, Y.J. (2015) *Detection of indoxyl sulfate levels in dogs and cats suffering from naturally 1 occurring kidney diseases*. *The Veterinary Journal*. Acedido em Novembro 12, 2015, disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023315001598>
- Chetboul, V., Lefebvre, H.P., Pinhas, C., Clerc, B., Boussof, M. & Pouchelon, J.L. (2003). *Spontaneous feline hypertension: clinical and echocardiographic abnormalities, and survival rate*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17 (1): 89–95.
- Chew, D.J. & DiBartola, S.P. (2009). *Prolonging life and kidney function* [versão eletrônica]. In *Proceedings of CVC in Kansas City: Kansas City, Aug. 1, 2009*. Acedido em Setembro 12, de 2015, disponível em: <http://veterinarycalendar.dvm360.com/avhc/Medicine/Prolonging-life-and-kidneyfunction-Proceedings/ArticleStandard/Article/detail/651332>
- Chew, D.J., DiBartola, S.P. & Schenck, P. (2011). *Chronic renal failure*. In Chew, D.J., DiBartola, S.P. & Schenck, P. (Eds). *Canine and feline nephrology and urology* (2nd Ed.). (pp.145-196). St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Chmielewski, M., Carrero, J.J., Stenvinkel, P. & Lindholm, B. (2009). *Metabolic abnormalities in chronic kidney disease that contribute to cardiovascular disease, and nutritional initiatives that may diminish the risk*. *Current Opinion in Lipidology*, 20 (1): 3-9.

- Connolly, D.J., Cannata, J., Boswood, A., Archer, J., Groves, E.A. & Neiger, R. (2003). *Cardiac troponin I in cats with hypertrophic cardiomyopathy*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 5: 209–216.
- Cowgill, L.D. (1992). *Pathophysiology and management of anemia in chronic progressive renal failure*. Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal), 7: 175–182.
- Cozzolino, M., Dusso, A.S., Liapis, H., Finch, J., Lu, Y., Burke, S.K. & Slatopolsky, E. (2002). *The effects of sevelamer hydrochloride and calcium carbonate on kidney calcification in uremic rats*. Journal of the American Society of Nephrology, 13: 2299–2308.
- Cunningham, J.G., Klein, B.G. (2007). *Textbook of Veterinary Physiology*, (4thEd). (pp. 81 – 88; 193 - 200). Philadelphia, Pensilvania, USA: Elsevier Saunders.
- Djajadiningrat-Laanen, S.C., Galac, S., Cammelbeeck, S.E., van Laar, K.J.C., Boer, P. & Kooistra, H.S. (2008). *Urinary aldosterone to creatinine ratio in cats before and after suppression with salt or fludrocortisone acetate*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 22, 1283–1288.
- DiBartola, S.P. (2004). Renal disease: Clinical approach and laboratory evaluation. In Ettinger, S.J. & Feldman, E.C. (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (Vol. 2) (6th Ed). (pp. 1716 – 1730). St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- DiBartola, S.P. & Autran de Moraes, H. (2012). Disorders of potassium: Hypokalemia and Hyperkalemia. In: DiBartola S.P. (Ed), *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice* (4th Ed). (pp. 92–119). St Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders, 2012.
- DiBartola S.P., Buffington, C.A., Chew, D.J., McLoughlin, M.A. & Sparks, R.A. (1993). *Development of chronic renal disease in cats fed a commercial diet*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 202: 744–751.
- DiBartola, S.P., Rutgers, H.C., Zack, P.M. & Tarr, M.J. (1987). *Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973-1984)*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 190: 1196-1202.
- Dilis, V. & Trichopoulou, A. (2010). *Antioxidant intakes and food sources in Greek adults*. Journal of Nutrition, 140 (7): 1274 – 1279.
- Dow, S.W., Fettman, M.J., Smith, K.R., Hamar, D.W., Nagode, L.A., Refsal, K.R. & Wilk, W.L. (1990). *Effects of dietary acidification and potassium depletion on acid-base balance, mineral metabolism and renal function in adult cats*. Journal of Nutrition, 120: 569–578.
- Du, Y., Li, X. & Liu, B. (2013). *Advances in pathogenesis and current therapeutic strategies for cardiorenal syndrome*. Life Sciences, 99 (1-2): 1 – 6.
- Eddy, A.A. (2004). *Proteinuria and interstitial injury*. Nephrology Dialyses Transplantation, 19: 277 - 281.
- Eddy, A.A. (2014). *Overview of the cellular and molecular basis of kidney fibrosis*. Kidney International Supplements, 4: 2 - 8.

- Eddy, A.A. & Giachelli, C.M. (1995). *Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria*. *Kidney International*, 47: 1546 – 1557.
- Edwards, N.C., Hirth, A., Ferro, C.J., Townend, J.N., & Steeds, R.P. (2008). *Subclinical abnormalities of left ventricular myocardial deformation in early-stage chronic kidney disease: the precursor of uremic cardiomyopathy?*. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 21: 1293–1298.
- Elliott, J. & Barber, P.J. (1998). *Feline chronic renal failure: clinical findings in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995*. *Journal of Small Animal Practice*, 39: 78 - 85.
- Elliott, J. & Grauer, G.F. (2007). Proteinuria. In Elliott, J. & Grauer, G.F. (Eds). *BSAVA Manual of canine and feline urology and nephrology* (2nd Ed.). (pp. 159-167). Quedgeley, Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Elliott J., Rawlings J.M., Markwell, P.J. & Barber, P.J. (2000). *Survival of cats with naturally occurring renal failure: effect of conventional dietary management*. *Journal of Small Animal Practice*, 41: 235-242.
- Elliott, J. & Syme, H.M. (2006). *Proteinuria in chronic kidney disease in cats – prognostic marker or therapeutic target?*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20 (5): 1052 – 1053.
- Elliott J., Syme, H.M. & Markwell P.J. (2003). *Acid base balance of cats with naturally occurring chronic renal failure: effect of deterioration in renal function*. *Journal of Small Animal Practice*, 44: 261-268.
- Elliott. J., Syme, H.M., Reubens, E. & Markwell, P.J. (2003a). *Assessment of acid-base status of cats with naturally occurring chronic renal failure*. *Journal of Small Animal Practice*, 44: 65–70.
- Elliott, J. & Watson A. (2013). Chronic kidney disease: IRIS staging and management. In Bonagura, J.D. & Twedt, D.C., (Eds), *Kirk's Current Veterinary Therapy XV*. (pp. 857-863). St Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Epstein, F.H. (1997). *Oxygen and renal metabolism*. *Kidney International*, 51: 381–385.
- Erel, O. (2004). *A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation*. *Clinical Biochemistry*, 37: 277 - 285.
- Eser, B., Yayar, O., Buyukbakkal, M., Erdogana, B., Ercana, Z., Merhametsiz, O., Haspulat, A., Oguz, E.G., Doganb, I., Canbakana, B. & Ayli, M.D. (2015). *Fibroblast growth factor is associated to left ventricular mass index, anemia and low values of transferrin saturation*. *Nefrologia*, 35 (5): 465 – 472.
- Ettinger, J.S. & Prosek, R. (2010). Biomarkers of cardiovascular disease. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, (Vol.2). (6th Ed). (pp. 1187-1196). St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Farris, A.B. & Colvin, R.B. (2012). *Renal interstitial fibrosis: Mechanisms and evaluation*. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 21: 289 – 300.

- Ferrari, S.L., Bonjour, J.P. & Rizzoli, R. (2005). *Fibroblast growth factor-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men*. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 90 (3): 1519 – 1529.
- Finch, N.C., Geddes, R.F., Syme, H.M. & Elliott, J. (2013). *Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) concentrations in cats with early nonazotemic chronic kidney disease (CKD) and in healthy geriatric cats*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 27: 227–233.
- Finch, N.C., Syme, H.M. & Elliott, J. (2016). *Risk factors for development of chronic kidney disease in cats*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 30(2): 602-610.
- Finkel, T. & Holbrook, N. (2000). *Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing*. Nature, 408: 239 - 247.
- Fleming, J.M., Creevy, K.E. & Promislow, D.E. (2011). *Mortality in north american dogs from 1984 to 2004: an investigation into age-, size-, and breed-related causes of death*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 25:187–198.
- Fox, P.R., Bond, B.R. & Peterson, M.E. (1985). *Echocardiographic reference values in healthy cats sedated with ketamine hydrochloride*. American Journal of Veterinary Research, 46: 1479 – 1484.
- Freeman, L.M., Brown, D.J. & Rush, J.E. (1999). *Assessment of degree of oxidative stress and antioxidant concentrations in dogs with idiopathic dilated cardiomyopathy*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 215 (5): 644 – 646.
- Freeman, L., Lachaud, M., Matthews, S., Rhodes, L. & Zollers, B. (2015). *Evaluation of weight loss over time in cats with chronic kidney disease*. ACVIM congress 2015 [Abstract]. Acedido em Dezembro 12, 2015, disponível em: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=6790313&pid=11719&>
- Fukuda, K., Yoshitomi, K., Yanagida, T., Tokumoto, M. & Hirakata, H. (2001). *Quantification of TGF-beta1 mRNA along rat nephron in obstructive nephropathy*. American Journal of Physiology – Renal Physiology, 281: F513 - F521.
- Gabor, L.J., Canfield, P.J. & Malik, R. (2000). *Haematological and biochemical findings in cats in Australia with lymphosarcoma*. The Australian Veterinary Journal, 78 (7): 456-461.
- Galac, S., Reusch, C.E., Kooistra, H.S. & Rijnberk, A., (2010). Adrenals. In: Rijnberk, A., Kooistra, H.S. (Eds), *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats* (2thed). (pp. 93 - 154). Hannover, Germany: Schlütersche.
- Galle, J. (2001). *Oxidative stress in chronic renal failure*. Nephrology Dialysis Transplant, 16: 2135– 2137.
- Galle, J. & Seibold, S. (2003). *Has the time come to use antioxidant therapy in uraemic patients?* Nephrology Dialysis Transplant, 18: 1452 - 1455.
- Galli, F., Piroddi, M., Annetti, C., Aisa, C., Floridi, E. & Floridi, A. (2005). *Oxidative stress and reactive oxygen species*. Contributions to Nephrology, 149: 240 - 260.
- Geddes, R.F., Elliott, J. & Syme, H.M. (2013). *The effect of feeding a renal diet on plasma fibroblast growth factor 23 concentrations in cats with stable azotemic chronic kidney disease*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 27: 1354–1361.

- Geddes, R.F., Elliott, J. & Syme, H.M. (2015). *Relationship between plasma fibroblast growth factor-23 concentration and survival time in cats with chronic kidney disease*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 29 (6): 1494-1501.
- Geddes, R.F., Finch, N.C., Elliott, J. & Syme, H.M. (2013). *Fibroblast growth factor 23 in feline chronic kidney disease*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 27: 234–241.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F. & Scaccini, C. (2000). *Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data*. Free Radical Biology and Medicine, 29: 1106–1114.
- Gimenez, L.F., Solez, K. & Walker, W.G. (1987). *Relation between renal calcium content and renal impairment in 246 human renal biopsies*. Kidney International, 31: 93–99.
- Gonzalez-Parra, E., Garcia-Iguacel, C., Egido, J. & Ortiz, A. (2012). *Phosphorus and nutrition in chronic kidney disease*. International Journal of Nephrology, ID 597605. Acedido em Novembro 4, 2015, disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/ijn/2012/597605/>
- Gomes, A. & Potter, J. (2004). *Cellular and molecular aspects of familial hypertrophic cardiomyopathy caused by mutations in the cardiac troponin I gene*. Molecular and Cellular Biochemistry, 263:99–114.
- Goossens, M.C., Nelson, R.W., Feldman E.C. & Griffey, S.M. (1998). *Response to Insulin Treatment and Survival in 104 Cats with Diabetes Mellitus*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 12: 1-6.
- Grabner, A., Amaral, A.P., Schramm, K., Singh, S., Sloan, A., Yanucil, C., Li, J., Shehadeh, L.A., Hare, J.M., David, V., Martin, A., Fornoni, A., DiMarco, G.S., Kentrup, D., Reuter, S., Mayer, A.B., Pavenstadt, H., Stypmann, J., Kuhn, C., Hille, S., Frey, N., Leifheit-Nestler, M., Richter, B., Haffner, D., Abraham, R., Bange, J., Sperl, B., Ullrich, A., Brand, M., Wolf, M. & Faul, C. (2015). *Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy*. Cell Metabolism, 22 (6): 1020-1032.
- Grauer, G.F. (2000). Falla renal. In Nelson, R.W. & Couto, G. (Eds). *Medicina Interna de animales pequeños - Enfermedades urinarias*. (2ª Ed). (pp. 661-671). Buenos Aires, Argentina: Inter-médica.
- Grauer, G.F. (2007). Management of acute renal failure. In Elliott, J. & Grauer, G.F. (Eds). *BSAVA Manual of canine and feline urology and nephrology*. (2nd Ed.). (pp. 215-223). Quedgeley, Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Grauer, G.F. (2009). Urinary Tract Disorders. In Nelson & Couto (Eds), *Small Animal Internal Medicine* (4ª Edição). (pp. 607 - 636). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Grauer, G.F. (2015). *Feline chronic kidney disease*. Today's Veterinary Practice, Março/Abril, 36-41.
- Green, J.P., Lefebvre, S.L., Wang, M., Yang, M., Lund., E.M. & Polzin, D.J. (2014). *Risk factors associated with the development of chronic kidney disease in cats evaluated at primary care veterinary hospitals*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 244(3): 320-327.

- Groothoff, J.W., Gruppen, M.P., Offringa, M., Hutten, J., Lilien, M.R., Van De Kar, N.J., Wolff, E.D., Davin, J.C. & Heymans, H.S. (2002). *Mortality and causes of death of end-stage renal disease in children: A dutch cohort study*. Kidney International, 61 (2): 621 – 629.
- Gueteens, G., De Boeck, G., Highley, M., Oosterom, A.T. & De Bruijn, E.A. (2002). *Oxidative DNA damage: Biological significance and methods of analysis*. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 39: 331-457.
- Gutiérrez, O.M., Mannstadt, M., Isakova, T., Rauh-Hain, J.A., Tamez, H., Shah, A., Smith, K., Lee, H., Thadhani, R., Juppner, H. & Wolf, M. (2008). *Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis*. New England Journal of Medicine, 359 (6): 584 – 592.
- Habenicht, L.M., Webb, T.L., Clauss, L.A., Dow, S.W. & Quimby, J.M. (2012). *Urinary cytokine levels in apparently healthy cats and cats with chronic kidney disease*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 15(2): 99 - 104.
- Hallan, S.I., Matsushita, K., Sang, Y., Mahmoodi, B.K., Black, C., Ishani, A., Kleefstra, N., Naimark, D., Roderick, P., Tonelli, M., Wetzels, J.F., Astor, B.C., Gansevoort, R.T., Levin, A., Wen, C.P. & Coresh, J. (2012). *Age and association of kidney measures with mortality and end-stage renal disease*. Journal of the American Medical Association, 308 (22): 2349-2360.
- Halliwell, B. (1999). *Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end of the beginning*. Free Radical Research, 31: 261 - 272.
- Harley, L., Langston, C. (2012). *Proteinuria in dogs and cats*. Canadian Veterinary Journal, 53 (6): 631 – 638.
- Harris, D.C., Chan, L. & Schrier, R.W. (1988). *Remnant kidney hypermetabolism and progression of chronic renal failure*. The American Journal of Physiology, 254: F267–F276.
- Harvey, A.M. & Refsal, K.R. (2012). Feline hyperaldosteronism. In C.T. Mooney & M.E. Peterson, *BSAVA Manual of canine and feline endocrinology* (4th Ed.). (pp. 204-214). Quedgeley, Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Hawwa, N., Schreiber Jr., M.J. & Tang, W.H. (2013). *Pharmacologic management of chronic reno-cardiac syndrome*. Current Heart Failure Reports, 10 (1): 54-62.
- Hayashi, S.Y., Rohani, M., Lindholm, B., Brodin, L.A., Lind, B., Barany, P., Alvestrand, A. & Seeberger, A. (2006). *Left ventricular function in patients with chronic kidney disease evaluated by colour tissue Doppler velocity imaging*. Nephrology, Dialysis, Transplantation, 21 (1): 125-132.
- Helene, R. & Lefebvre, H.P. (2007). Assessment of renal function. In Elliott, J. & Grauer, G.F. (Eds). *BSAVA Manual of canine and feline urology and nephrology* (2nd Ed.). (pp. 117 - 125). Quedgeley, Gloucester, UK. British Small Animal Veterinary Association.
- Henik, R.A., Stepien, R.L. & Bortnowski, H.B. (2004). *Spectrum of M-mode echocardiographic abnormalities in 75 cats with systemic hypertension*. Journal of the American Animal Hospital Association, 40:359–363.

- Holden, R.M., Beseau, D., Booth, S.L., Adams, M.A., Garland, J.S., Morton, R.A., Collier, C.P. & Foley, R.N. (2012). *FGF-23 is associated with cardiac troponin T and mortality in hemodialysis patients*. Hemodialysis International, 16:53-58.
- Hostetter, T.H., Olson, J.L., Rennke, H.G., Venkatachalam, M.A., Brenner, B.M. (1981). *Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation*. American Journal of Physiology, 241: F85 - F92.
- Huang, Y., Wongamorntham, S., Kasting, J., McQuillan, D., Owens, R.T., Yu, L., Noble, N.A. & Border, W. (2006). *Renin increases mesangial cell transforming growth factor-beta1 and matrix proteins through receptor-mediated, angiotensin II-independent mechanisms*. Kidney International, 69: 105 - 113.
- Hughes, K.L., Slater, M.R., Geller, S., Burkholder, W.J. & Fitzgerald, C. (2002). *Diet and lifestyle variables as risk factors for chronic renal failure in pet cats*. Preventive Veterinary Medicine, 55: 1 - 15.
- Ichii, O., Yabuki, O., Sasaki, N., Otsuka, H., Yamasaki, M., Takiguchi, M., Namiki, Y., Hashimoto, Y., Endoh, D. & Kon, Y. (2011). *Pathological correlations between podocyte injuries and renal functions in canine and feline chronic kidney diseases*. Histology and Histopathology, 26 (10): 1243 – 1255.
- Isakova, T., Wahl, P., Vargas, G.S., Gutiérrez, O.M., Scialla, J., Xie, H., Appleby, D., Nessel, L., Bellovich, K., Chen, J., Hamm, L., Gadegbeku, C., Horwitz, E., Townsend, R.R., Anderson, C.A., Lash, J.P., Leonard, M.B. & Wolf, M. (2011). *Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease*. Kidney International, 79 (12): 1370 – 1378.
- Isakova, T., Xie, H., Yang, W., Xie, D., Anderson, A.H., Scialla, J., Wahl, P., Gutiérrez, O., Steigerwalt, S., He, J., Schwartz, S., Lo, J., Ojo, A., Sondheim, J., Hsu, C., Lash, J., Leonard, M., Kusek, J.W., Feldman, H.I. & Wolf, M. (2011a). *Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease*. Journal of the American Medical Association, 305 (23): 2432 – 2439.
- Ishida, T., Washizu, T., Toriyabe, K., Motoyoshi, S., Tomoda, I. & Pedersen, N.C. (1989). *Feline immunodeficiency virus infection in cats in Japan*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 194: 221 - 225.
- Jabs, A., Moncada, G.A., Nichols, C.E., Waller, E.K. & Wilcox, J.N. (2005). *Peripheral blood mononuclear cells acquire myofibroblast characteristics in granulation tissue*. Journal of Vascular Research, 42: 174–180.
- Jacobs, G.J. & Knight, D.H. (1985). *M-mode echocardiographic measurements in nonanesthetized healthy cats: effects of body weight, heart rate and other variables*. American Journal of Veterinary Research, 46: 1705 – 1711.
- Jansen, E.H. & Ruskovska, T. (2013). *Comparative analysis of serum (anti)oxidative status parameters in healthy persons*. International Journal of Medical Sciences, 14 (3): 6106 – 6115.
- Javadi, S., Djajadiningrat-Laanen, S.C., Kooistra, H.S., van Dongen, A.M., Voorhout, G., van Sluijs, F.J., van den Ingh, T.S., Boer, W.H. & Rijnberk, A. (2005). *Primary hyperaldosteronism: a mediator of progressive renal disease in cats*. Domestic Animal Endocrinology, 28, 85–104
- Jepson, R.E. (2011). *Feline systemic hypertension: Classification and pathogenesis*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 13 (1): 25 – 34

- Jepson, R.E. (2015). *Understanding feline CKD: mineral and bone disorder* [Abstract]. ACVIM Congress 2015. Acedido em Novembro 2, 2015, disponível em: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=6790556&pid=11719&>
- Jepson, R.E. (2015a). *Understanding feline CKD: pathogenesis and progression* [Abstract]. ACVIM Congress 2015. Acedido em Novembro 2, 2015, disponível em: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=6790557&pid=11719&>
- Jepson, R. E., Vallance, C., Syme, H. M., & Elliott, J. (2010). *Assessment of urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase activity in geriatric cats with variable plasma creatinine concentrations with and without azotemia*. American Journal of Veterinary Research, 71 (2), 241-247.
- Jergens, A.E., McCaw, D.L. & Hewett, J.E. (1987). *Effects of collection time and food consumption on the urine protein/creatinine ratio in the dog*. American Journal of Veterinary Research, 48 (7): 1106-1109.
- Johnson, T.S., El-Koraie, A.F., Skill, N.J., Baddour, N.M., El-Nahas, A.M., Nijloma, M., Adam, A.G., Griffin, M. (2003). *Tissue transglutaminase and the progression of renal scarring*. Journal of the American Society of Nephrology, 14: 2052 - 2062.
- Johnson, T.S., Skill, N.J., El-Nahas, A.M., Oldroyd, S.D., Thomas, G.L., Douthwaite, J.A., Haylor, J.L., Griffin, M. (1999). *Transglutaminase transcription and antigen translocation in experimental renal scarring*. Journal of the American Society of Nephrology, 10: 2146 - 2157.
- Juknevičius, I., Segal, Y., Kren, S., Lee, R. & Hostetter, T.H. (2004). *Effect of aldosterone on renal transforming growth factor-beta*. American Journal of Physiology – Renal Physiology, 286: F1059 - F1062.
- Karayannopoulou, M., Fytianou, A., Assaloumidis, N., Psalla, D., Savvas, I. & Kaldrymidou, E. (2013). *Lipid peroxidation in neoplastic tissue of dogs with mammary cancer fed with different kinds of diet*. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 37: 449 - 453.
- Kawakami, T., Mimura, I., Shoji, K., Tanaka, T. & Nangaku, M. (2014). *Hypoxia and fibrosis in chronic kidney disease: crossing at pericytes*. Kidney International Supplements, 4: 107 – 112.
- Karadag, A., Ozcelik, B. & Saner, S. (2009). *Review of methods to determine antioxidant capacities*. Food Analytical Methods, 2: 41 – 60.
- Khan, S., Cleveland, R.P., Koch, C.J. & Schelling, J.R. (1999). *Hypoxia induces renal tubular epithelial cell apoptosis in chronic renal disease*. Laboratory Investigation, 79: 1089 - 1099.
- Khanna, S., Pande, D., Negi, R., Karki, K., Khanna, R. & Khanna H. (2012). *Oxidative stress induced damage in benign and malignant breast diseases: histopathological and biochemical aspects*. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 8 (1): 209-214.
- Keegan, R.F. & Webb, C.B. (2010). *Oxidative stress and neutrophil function in cats with chronic kidney disease*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 24: 514-519.

- Kehrer, J.P. (2000). *The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity*. Toxicology, 149: 43 - 50.
- Kidder, A. & Chew, D. (2009). *Treatment options for hyperphosphataemia in feline CKD*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 11: 913 - 924.
- King, J.N., Gunn-Moore, D.A., Tasker, S., Gleadhill, A., Strehlau, G. & BENRIC (Benazepril in Renal Insufficiency in Cats) Study Group. (2006). *Tolerability and efficacy of benazepril in cats with chronic kidney disease*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 20: 1054 - 1064.
- King, J.N., Tasker, S., Gunn-Moore, D.A., Strehlau, G. & BENRIC (Benazepril in renal insufficiency in cats) study group (2007). *Prognostic factors in cats with chronic kidney disease*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 21:906–916.
- Kirk, C.A. (2012). *Two are not better: Feline chronic kidney disease and diabetes mellitus* [Abstract]. ACVIM Congress 2012. Acedido em Junho 12, 2015, disponível em: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=5397249&pid=11356&>
- Kitiyakara, C., Chabrashvili, T., Chen, Y., Blau, J., Karber, A., Aslam, S., Welch, W.J. & Wilcox, C.S. (2003). *Salt intake, oxidative stress, and renal expression of NADPH oxidase and superoxide dismutase*. Journal of the American Society of Nephrology, 14: 2775 - 2782.
- Knap, B., Veceric-Haler, Z., Benedik, M., Buturovic-Ponikvar, J., Ponikvar, R. & Bren, A.F. (2013). *Fibroblast growth factor 23 and left ventricular mass index in maintenance hemodialysis patients: Standard versus long nocturnal hemodialysis*. Therapeutic Apheresis and Dialysis, 17 (4): 407-411.
- Koiwa, F., Kazama, J.J., Tokumoto, A., Onoda, N., Kato, H., Okada, T., Nii-Kono, T., Fukagawa, M., Shigematsu, T. & ROD21 Clinical Research Group. (2005). *Sevelamer hydrochloride and calcium bicarbonate reduce serum fibroblast growth factor 23 levels in dialysis patients*. Therapeutic Apheresis and Dialysis, 9 (4): 336 – 339.
- Kohen, R. & Nyska, A. (2002). *Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification*. Toxicologic Pathology, 30 (6): 620 – 650.
- Kong, T., Eltzschig, H.K., Karhausen, J., Colgan, S.P. & Shelley, C.S. (2004). *Leukocyte adhesion during hypoxia is mediated by HIF-1-dependent induction of beta 2 integrin gene expression*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101: 10440 – 10445.
- Koracevic, D., Koracevic, G., Djoedjevic, V., Andrejevic, S. & Cosic, V. (2001). *Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids*. Journal of Clinical Pathology, 54 (5): 356 – 361.
- Kopyt, N. (2005). *Slowing progression along the renal disease continuum*. Journal of the American Osteopathic Association, 105 (4): 207 – 215.
- Kramann, R., DiRocco, D.P., Maarouf, O.H., Humphreys, B.D. (2013). *Matrix producing cells in chronic kidney disease: origin, regulation and activation*. Current Pathobiology Reports, 2013: 1.

- Kumaraguruparan, R., Balachandran, C. Manohar, B.M. & Nagini, S. (2005). *Altered oxidant-antioxidant profile in canine mammary tumours*. Veterinary Research Communications, 29 (4): 287 – 296.
- Kyles, A.E., Hardie, E.M., Wooden B.G., Adin C.A., Stone E.A., Gregory C.R., Mathews K.G., Cowgill L.D., Vaden S., Nyland T.G. & Ling, G.V. (2005). *Clinical, clinicopathologic, radiographic, and ultrasonographic abnormalities in cats with ureteral calculi: 163 cases (1984-2002)*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 226 (6): 932-6.
- Lalor, S.M., Connolly, D.J., Elliott, J. & Syme, H.M. (2009). *Plasma concentrations of natriuretic peptides in normal cats and normotensive and hypertensive cats with chronic kidney disease*. Journal of Veterinary Cardiology, 11(1): S71-S79
- Lalor, S.M., Gunn-Moore, D.A., Cash, R., Foot, A., Reed, N. & Mellanby, R.J. (2014). *Serum cardiac troponin I concentrations in cats with anaemia – a preliminary, single-centre observational study*. Journal of Small Animal Practice, 55: 320–322.
- Langhorn, R., Kloster, A.S., Jessen, L.R., Jensen & A, Koch, J. (2015). *Serum and urine cardiac troponin I in cats with renal disease* [Abstract]. ACVIM Congress 2015. Acedido em Dezembro. 25, 2015, disponível em: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=6922084&pid=12360&>
- Langhorn, R., Tarnow, I., Willesen, J.L., Kjølgaard-Hansen, M., Skovgaard, I.M. & Koch, J. (2014). *Cardiac troponin I and T as prognostic markers in cats with hypertrophic cardiomyopathy*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 28: 1485–1491.
- Langhorn, R. & Willesen, J.L. (2016). *Cardiac troponins in dogs and cats*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 30 (1): 36-50.
- Langhorn, R., Willesen, J.L., Tarnow, I. & Kjølgaard-Hansen, M. (2013). *Evaluation of a high-sensitivity assay for measurement of canine and feline serum cardiac troponin I*. Veterinary Clinical Pathology, 42(4): 490–498.
- Lappin, M.R., Jensen, W.A., Jensen, T.D., Basaraba, R.J., Brown, C.A., Radecki, S.V. & Hawley, J.R. (2005). *Injectable administration of feline viral rhinotracheitis, calicivirus, and panleukopenia vaccines induces antibodies that react with Crandall Rees feline kidney cell lysates and feline renal cell lysates*. American Journal of Veterinary Research, 66: 506 - 511.
- Lappin, M.R., Basaraba, R.J. & Jensen, W.A. (2006). *Interstitial nephritis in cats inoculated with Crandell Rees feline kidney cell lysates*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 8: 353 - 356.
- Lawler, D.F., Evans, R.H., Chase, K., Ellersieck, M., Li, Q., Larson, B.T., Satyaraj, E. & Heininger, K. (2006). *New perspectives of the aging feline kidney: a model mortality antagonist?* Journal of Feline Medicine and Surgery, 8: 363- 371.
- Lawson, J., Elliott, J., Wheeler-Jones, C., Syme, H. & Jepson, R. (2015). *Renal fibrosis in feline chronic kidney disease: Known mediators and mechanisms of injury*. The Veterinary Journal, 203: 18-26.
- Lees, G.E., Brown, S.A., Elliott, J., Grauer, G.F. & Vaden, S.L. (2005). *Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM forum consensus statement (small animal)*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 19: 377-385.

- Lees, G.E., Cianciolo, R.E. & Clubb, F.J. Jr. (2011). *Renal biopsy and pathologic evaluation of glomerular disease*. Topics in Companion Animal Medicine, 26: 143–153.
- Lekawanvijit, S., Adrahtas, A., Kelly, D.J., Kompa, A.R., Wang, B.H. & Krum, H. (2010). *Does indoxyl sulfate, a uraemic toxin, have direct effects on cardiac fibroblasts and myocytes?*. European Heart Journal, 31 (14): 1771 – 1779.
- Lekawanvijit, S., Kompa, A.R., Manabe, M., Wang, B.H., Langham, R.G., Nishijima, F., Kelly, D. & Krum, H. (2012). *Chronic kidney disease-induced cardiac fibrosis is ameliorated by reducing circulating levels of a non-dialysable uremic toxin, indoxyl sulfate*. PLoS One, 7(7): e41281. Acedido em Maio 5, 2015, disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0041281>
- Li, M.X., Wang, X. & Sykes, B.D. (2004). *Structural based insights into the role of troponin in cardiac muscle pathophysiology*. Journal of Muscle Research and Cell Motility, 25 (7): 559-579.
- Lippi, G. & Cervellin, G. (2013). *High-sensitivity troponin T is more susceptible than high sensitivity troponin I to impaired renal function*. American Journal of Cardiology, 112: 1985.
- Liu, S.K. (1970). *Acquired cardiac lesions leading to congestive heart failure in the cat*. American Journal of Veterinary Research, 31 (11): 2071–2088.
- Liu, Y. (2011). *Cellular and molecular mechanisms of renal fibrosis*. National Review of Nephrology, 7: 684 – 696.
- Liu, Y., Liu, Y., Liu, X., Chen, J., Zhang, K., Huang, F., Wang, J., Tang, W. & Huang, H. (2015). *Apocynin attenuates cardiac injury in type 4 cardiorenal syndrome via suppressing cardiac fibroblast growth factor-2 with oxidative stress inhibition*. Journal of the American Heart Association, e001598. Acedido em Novembro 10, 2015, disponível em: <http://jaha.ahajournals.org/content/4/7/e001598.full.pdf+html>
- Locatelli, F., Canaud, B., Eckardt, K.U., Stenvinkel, P., Wanner, C. & Zoccali, C. (2003). *Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome*. Nephrology Dialysis Transplant, 18: 1272 - 1280.
- Lulich, J.P., Osborne, C.A., O'Brien, T.D. & Polzin, D.J. (1992). *Feline renal failure: Questions, answers, questions*. Compendium of Continuing Education for Practicing Veterinarians.; 14, 127-152.
- Lund E.M., Armstrong P.J., Kirk C.A., Kolar, L.M. & Klausner, J.S. (1999). *Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 214:1336-1341.
- MacDonald, K. (2010). Myocardial disease. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, (Eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, (Vol. 2). (7th Ed). (pp. 1328-1335). St.Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Machado, V.S., Crivellenti, L.Z., Bottari, N.B., Tonin, A.A., Pelinson, L.P., Borin-Crivellenti, S., Santana, A.E., Torbitz, V.D., Moresco, R.N., Duarte, T., Duarte, M.M., Schetinger, M.R., Morsch, V.M., Jaques, J.A., Tinucci-Costa, M. & Da Silva, A.S. (2015). *Oxidative stress and inflammatory response biomarkers in dogs with mammary carcinoma*. Pathology, Research and Practice, 211 (9): 677 – 81.

- Macotpet, A., Suksawat, F., Sukon, P., Pimpakdee, K., Pattarapanwichien, E., Tangrassameeprasert, R. & Boonsiri, P. (2013). *Oxidative stress in cancer-bearing dogs assessed by measuring serum malondialdehyde*. BMC Veterinary Research, 9: 101.
- Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J.L. (2008). *Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties*. Analytica Chimica Acta, 613 (1): 1 – 19.
- Mall, G., Huther, W., Schneider, J., Lundin, P. & Ritz, E. (1990). *Diffuse intermyocardiocytic fibrosis in uraemic patients*. Nephrology, Dialysis, Transplantation, 5: 39–44.
- Marino, C.L. Lascelles, B.D., Vaden, S.L., Gruen, M.E. & Marks, S.L. (2014). *Prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected from four age groups and in cats recruited for degenerative joint disease studies*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 16 (6): 465-472.
- Martins, H., Pedro, N., Castellano, M., Monteiro, P., Moura, J.J., Providência, L.A. (2011). *Síndrome cardio-renal: os desafios no tratamento da insuficiência cardíaca*. Acta Médica Portuguesa, 24: 285-292.
- Matés, J.M. (2000). *Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology*. Toxicology, 153: 83 - 104.
- Matés, J.M. & Sánchez-Jiménez, F. (1999). *Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes*. Frontiers in Bioscience, 4: 339 - 345.
- Matteucci, M.C., Chinali, M., Rinelli, G., Wuhl, E., Zurowska, A., Charbit, M., Pongiglione, G., Schaefer, F. & ESCAPE Trial Group. (2013). *Change in cardiac geometry and function in CKD children during strict BP control: a randomized study*. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 8 (2): 203-210.
- Mayer-Roenne, B. & Goldstein, R.E. (2007). *Urinary tract infections in cats with hyperthyroidism, diabetes mellitus and chronic kidney disease*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 9: 124-132.
- McCullough, P.A., Kellum, J.A., Haase, M., Muller, C., Damman, K., Murray, P.T., Cruz, D., House, A.A., Schmidt-Ott, K.M., Vescovo, G., Bagshaw, S.M., Hoste, E.A., Briguori, C., Braam, B., Chawla, L.S., Constanzo, M.R., Tumlin, J.A., Herzog, C.A., Mehta, R.L., Rabb, H., Shaw, A.D., Singbarti, K. & Ronco, C. (2013). *Pathophysiology of the cardiorenal syndromes: executive summary from the eleventh consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI)*. Contributions to Nephrology, 182: 82–98.
- McKee, T. (1999). *Oxidative stress*. In: McKee, T. & McKee, J.R. (Eds). *Biochemistry: An Introduction* (2nd Ed.). (pp. 316 - 329). USA: McGraw-Hill.
- McLeland, S.M., Cianciolo, R.E., Duncan, C.G. & Quimby, J.M. (2015). *A comparison of biochemical and histopathologic staging in cats with chronic kidney disease*. Veterinary Pathology, 52(3): 524-534.
- McLeland, S.M., Lunn, K.F., Duncan, C.G., Refsal, K.R. & Quimby, J.M. (2014). *Relationship among serum creatinine, serum gastrin, calcium-phosphorus product, and uremic gastropathy in cats with chronic kidney disease*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 28, 827-837.

- Members, K.B. (2013). *Chapter 4: other complications of CKD: CVD, medication dosage, patient safety, infections, hospitalizations, and caveats for investigating complications of CKD*. *Kidney International: Supplements*, 3 (1): 91-111.
- Metzger, J.M. & Westfall, M.V. (2004). *Covalent and noncovalent modification of thin filament action - the essential role of troponin in cardiac muscle regulation*. *Circulation Research*, 94:146–158.
- Milner, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V. & Milner, A. (1993). *A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates*. *Clinical Science (London)*, 84 (4): 407 – 412.
- Mimura, I. & Nangaku, M. (2010). *The suffocating kidney tubulointerstitial hypoxia in end-stage renal disease*. *Nature Reviews in Nephrology*, 6: 667 - 678.
- Minkus, G., Reusch, C., Hörauf, A., Breuer, W., Darbès, J., Kraft, W. & Hermanns, W. (1994). *Evaluation of renal biopsies in cats and dogs - histopathology in comparison with clinical data*. *Journal of Small Animal Practice*, 35: 465–472.
- Mitsnefes, M.M., Kimball, T.R., Kartal, J., Witt, S.A., Glascock, B.J., Khoury, P.R. & Daniels, S.R. (2006). *Progression of left ventricular hypertrophy in children with early chronic kidney disease: 2-year follow-up study*. *Journal of Pediatrics*, 149 (5): 671-675.
- Miyagawa, Y., Tominaga, Y., Toda, N. & Takemura, N. (2013). *Relationship between glomerular filtration rate and plasma N-terminal pro B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with chronic kidney disease*. *Veterinary Journal*, 197:445–450.
- Moe, S.M., Zidehsarai, M.P., Chambers, M.A., Jackman, L.A., Radcliffe, J.S., Trevino, L.L., Donahue, S.E. & Asplin, J.R. (2011). *Vegetarian compared with meat dietary protein source and phosphorus homeostasis in chronic kidney disease*. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6 (2): 257 – 264.
- Moise, N.S. & Dietz, A.E. (1986). *Echocardiographic, electrocardiographic and radiographic detection of cardiomegaly in hyperthyroid cats*. *American Journal of Veterinary Research*, 47: 1487 – 1494.
- Moon, K.H., Song, I.S., Yang, W.S., Shin, Y.T., Kim, S.B., Song, J.K. & Park, J.S. (2000). *Hypoalbuminemia as a risk factor for progressive left-ventricular hypertrophy in hemodialysis patients*. *American Journal of Nephrology*, 20: 396–401.
- Nagy, G., Ward, J., Mosser, D.D., Koncz, A., Gergely, P., Stancato, C., Qian, Y., Fernandez, D., Niland, B., Grossman, C.E., Telarico, T., Banki, K. & Perl, A. (2006). *Regulation of CD4 expression via recycling by HRES-1/RAB4 controls susceptibility to HIV infection*. *Journal of Biological Chemistry*, 281(45): 34574 – 34591.
- Nath, K.A. (1992). *Tubulointerstitial changes as a major determinant in the progression of renal damage*. *American Journal of Kidney Diseases*, 20: 1–17.
- Nakajima, H., Takenaka, M., Kaimori, J.Y., Nagasawa, Y., Kosugi, A., Kawamoto, S., Imai, E., Hori, M. & Okubo, K. (2002). *Gene expression profile of renal proximal tubules regulated by proteinuria*. *Kidney International*, 61: 1577–1587.
- Nikolic-Paterson, D.J. (2010). *CD4+ T cells: A potential player in renal fibrosis*. *Kidney International*, 78: 333-335.

- Norman, J.T., Clark, I.M. & Garcia, P.L. (2000). *Hypoxia promotes fibrogenesis in human renal fibroblasts*. *Kidney International*, 58: 2351–2366.
- O'Brien, P.J. (2008). *Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity*. *Toxicology*, 245: 206–218.
- Oliveira, R.B., Cancela, A.L., Graciolli, F.G., Dos Reis, L.M., Draibe, S.A., Cuppari, L., Carvalho, A.B., Jorgetti, V., Canziani, M.E. & Moysés, R.M. (2010). *Early control of PTH and FGF 23 in normophosphatemic CKD patients: a new target in CKD-MBD therapy?*. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 5 (2): 286 – 291.
- O'Neil, D.G., Church, D.B., McGreevy, P.D., Thomson, P.C., & Brodbelt, D.C. (2015). *Longevity and mortality of cats attending primary care veterinary practices in England*. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17: 125 - 133.
- Orphanides, C., Fine, L.G. & Norman, J.T. (1997). *Hypoxia stimulates proximal tubular cell matrix production via a TGF-beta1-independent mechanism*. *Kidney International*, 52: 637 – 647.
- Owada, S., Goto, S., Bannai, K., Hayashi, H., Nishijima, F. & Niwa, T., (2007). *Indoxyl sulfate reduces superoxide scavenging activity in the kidneys of normal and uremic rats*. *American Journal of Nephrology* 28, 446-454.
- Oyama, M.A. (2013). *Using cardiac biomarkers in veterinary practice*. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal*, 43, 1261–1272.
- Paepe, D. & Daminet, S. (2013). *Feline CKD - Diagnosis, staging and screening - what is recommended?*. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15 (1): 15 – 27.
- Palazzuoli, A., Masson, S., Ronco, C. & Maisel, A. (2014). *Clinical relevance of biomarkers in heart failure and cardiorenal syndrome: the role of natriuretic peptides and troponin*. *Heart Failure Reviews*, 19 (2): 267-284.
- Panteghini, M., Pagani, F., Yeo, K.T., Apple, F.S., Christenson, R.H., Dati, F., Mair, J., Ravkilde, J. & Wu, A.H. (2004). *Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentrations*. *Clinical Chemistry*, 50 (2): 327-332.
- Parekh, R.S., Carroll, C.E., Wolfe, R.A. & Port, F.K.(2002). *Cardiovascular mortality in children and young adults with end-stage kidney disease*. *Journal of Pediatrics*, 141:191–197.
- Park, M., Hsu, C.Y., Li, Y., Mishra, R.K., Keane, M., Rosas, S.E., Dries, D., Xie, D., Chen, J., He, J., Anderson, A., Go, A.S., Shlipak, M.G. & Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study Group. (2012). *Associations between kidney function and subclinical cardiac abnormalities in CKD*. *Journal of the American Society of Nephrology*, 23 (10): 1725-1734.
- Perico, N., Codreanu, E., Schieppati, A. & Remuzzi, G. (2005). *Pathophysiology of disease progression in proteinuric nephropathies*. *Kidney International*, 67: S79 - S82.
- Pipers, F.S., Reef, V.B. & Hamlin, R.L. (1979). *Echocardiography in the domestic cat*. *American Journal of Veterinary Research*, 40: 882 – 886.

- Piyarungsri, K. & Pusoonthornthum, R. (2016). *Risk and protective factors for cats with naturally occurring chronic kidney disease*. Journal of Feline Medicine and Surgery. Acedido em Fevereiro 5, 2015, disponível em: <http://jfm.sagepub.com/content/early/2016/01/20/1098612X15625453.full.pdf+html>
- Plavec, T., Nemec, S.A., Butinar, J., Natasa, T., Prezelj, M., Kandel, B. & Kessler, M. (2008). *Antioxidant status in canine cancer patients*. Acta Veterinaria (Beograd), 58 (2-3): 275 - 286.
- Poli, A., Tozon, N., Guidi, G. & Pistello, M. (2012). *Renal alterations in feline immunodeficiency virus (FIV)-infected cats: a natural model of lentivirus-induced renal disease changes*. Viruses, 4: 1372–1389.
- Polzin, D.J. (2010). Chronic kidney disease. In: Ettinger, S.J. & Feldman, E.C., (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (Vol. 2). (7th Ed.). (pp. 2036 - 2067). St Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Polzin, D.J. (2011). *Chronic kidney disease in small animals*. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 41: 15–30.
- Polzin, D.J. (2011a). Chronic kidney disease. In: Bartges, J.W. & Polzin, D.J. (Eds). *Nephrology and Urology of small animals*. (pp. 433 - 471). Ames, Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Polzin, D.J. (2013). *Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats*. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 23 (2): 205–215.
- Polzin, D.J., Osborne, C.A & Ross, S. (2005). Chronic kidney disease. In Ettinger, S.J. & Feldman, E.C. (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (Vol. 2), (6th Ed.). (pp. 1565 - 1591). St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Porciello, F., Rishniw, M., Herndon, W.E., Biretoni, F., Antognoni, M.T. & Simpson, K.W. (2008). *Cardiac troponin I is elevated in dogs and cats with azotaemia renal failure and in dogs with non-cardiac systemic disease*. Australian Veterinary Journal, 86 (10): 390-394.
- Pouchelon, Atkins, Bussadori, Oyama, Vaden, Bonagura, Chetboul, Cowgill, Elliott, Francey, Grauer, Fuentes, Moise, Polzin & Van Dongen, Israël (2015). *Cardiovascular–renal axis disorders in the domestic dog and cat: a veterinary consensus statement*. Journal of Small Animal Practice, 56: 537-552.
- Prasad, M., Krueger, M. & Krueger, M. (2014). *Decreased level of serum paraoxanase (PON) activity in dogs with dilated cardiomyopathy (DCM)*. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health, 6 (9): 245 - 250.
- Prunotto, M., Ghiggeri, G., Bruschi, M., Gabbiani, G., Lescuyer, P., Hoher, B., Chaykovska, L., Berrera, M. & Moll, S. (2011). *Renal fibrosis and proteomics: Current knowledge and still key open questions for proteomic investigation*. Journal of Proteomics, 74: 1855 - 1870.
- Quimby, J.M., Maranon, D.G., Battaglia, C.L, McLeland, S.M., Brock, W.T. & Bailey, S.M. (2013). *Feline chronic kidney disease is associated with shortened telomeres and decreased cellular senescence*. American Journal of Physiology: Renal Physiology, 305: F295-F303.

- Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M. & Aggarwal, B.B. (2010). *Oxidative stress, inflammation and cancer: How are they linked?*. Free Radical Biology & Medicine, 49 (11): 1603-1616.
- Rice-Evans, C. & Miller, N.J. (1994). *Total antioxidant status in plasma and body fluids*. Methods in Enzymology, 234: 279 – 293.
- Riesen, S.C., Kovacevic, A., Lombard, C.W. & Amberger, C. (2007). *Prevalence of heart disease in symptomatic cats: an overview from 1998 to 2005*. Schweizer Archiv fur Tierheilkunde, 149:65–71.
- Rimucci, M., Collins, M., Fedarko, N., (2003). *FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting*. Journal of Clinical Investigation, 112: 683 – 692.
- Risdon, R.A., Sloper, J.C. & De Wardener, H.E. (1968). *Relationship between renal function and histological changes found in renal-biopsy specimens from patients with persistent glomerular nephritis*. Lancet, 2: 363–366.
- Rocha, R. & Funder, J.W. (2002). *The pathophysiology of aldosterone in the cardiovascular system*. Annual of the New York Academy of Science, 970: 89 - 100.
- Rodriguez-Iturbe, B., Pons, H., Herrera-Acosta, J & Johnson, R.J. (2001). *Role of immunocompetent cells in nonimmune renal diseases*. Kidney International, 59: 1626 – 1640.
- Rodriguez-Iturbe, B. & Garcia Garcia, G. (2010). *The role of tubulointerstitial inflammation in the progression of chronic renal failure*. Nephron Clinical Practice, 116: c81-c88.
- Ronco, C. & Di Lullo, L. (2014). *Cardiorenal syndrome*. Heart failure clinics, 10: 251–280.
- Ronco, C., McCullough, P., Anker, S.D., Anand, I., Aspromonte, N., Bagshaw, S.M., Bellomo, R., Berl, T., Bobek, I., Cruz, D.N., Daliento, L., Davenport, A., Haapio, M., Hellige, H., House, A.A., Katz, N., Maisel, A., Mankad, S., Zanco, P., Mebazaa, A., Palazzuoli, A., Ronco, F., Shaw, A., Sheinfeld, G., Soni, S., Vescovo, G., Zampretti, N. & Ponikowski, P. (2010). *Cardio-renal syndromes: report from the consensus conference of the acute dialysis quality initiative*. European Heart Journal, 31: 703–711.
- Ross, L.A., Finco, D.R. & Crowell, W.A. (1982). *Effect of dietary phosphorus restriction on the kidneys of cats with reduced renal mass*. American Journal of Veterinary Research, 43: 1023 - 1026.
- Ross, S.J., Osborne, C.A., Kirk, C.A. & Polzin, D.J. (2006). *Clinial evaluation of dietary modifications for treatment of spontaneous chronic kidney disease in cats*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 229: 949 – 957.
- Rossert, J., McClellan, W., Roger, S., Verbeelen, D.L. & Horl, W.H. (2002). *Contribution of anaemia to progression of renal disease: a debate*. Nephrology Dialysis Transplant, 17 (S1): 60 – 66.
- Rubattu, S., Mennuni, S., Testa, M., Mennuni, M., Pierelli, G., Pagliaro, B., Gabriele, B., Coluccia, R., Autore, C. & Volpe, M. (2013). *Pathogenesis of chronic cardiorenal syndrome: is there a role for oxidative stress?* International Journal of Molecular Sciences, 14 (11): 23011 – 23032.

- Ruster, C. & Wolf, G. (2011). *Angiotensin II as a morphogenic cytokine stimulating renal fibrogenesis*. Journal of the American Society of Nephrology, 22: 1189 – 1199.
- Sampedrano, C., Chetboul, V., Gouni, V., Nicolle, A.P., Pouchelon, J.L. & Tissier, R. (2006). *Systolic and diastolic myocardial dysfunction in cats with hypertrophic cardiomyopathy or systemic hypertension*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 20 (5): 1106 – 1115.
- Sanchez - Lara, A.C., Elliott, J., Syme, H.M., Brown, C.A. & Haylor, J.L. (2015). *Feline chronic kidney disease is associated with upregulation of transglutaminase 2: A collagen cross-linking enzyme*. Veterinary Pathology, 52(3): 513-523.
- Sawashima, K., Mizuno, S., Mizuno-Horikawa, Y., Shimada, A., Kudo, T. & Kurosawa, T. (2000). *Expression of alfa-smooth muscle actin and fibronectin in tubulointerstitial lesions of cats with chronic renal failure*. American Journal of Veterinary Research, 61: 1080 - 1086.
- Scavarda, V.T., Pinheiro, A.C., Costa, S.D., de Andrade, Z.M., Carvalhaes, J.T., Campos, O., Carvalho, A.C. & Moises, V.A. (2014). *Children with chronic renal disease undergoing dialysis or conservative treatment--differences in structural and functional echocardiographic parameters*. Echocardiography, 31 (9): 1131-1137.
- Schlesier, K., Harwat, M., Bohm, V. & Bitsch, R. (2002). *Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods*. Free Radical Research, 36 (2): 177 – 187.
- Schrier, R. W. & Abraham, W. T. (1999). *Hormones and hemodynamics in heart failure*. New England Journal of Medicine, 341 (8): 577–585.
- Schrier, R.W., Masoumi, A. & Elhassan, E. (2010). *Aldosterone: role in edematous disorders, hypertension, chronic renal failure, and metabolic syndrome*. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 5: 1132 – 1140.
- Schmidt, M.K., Reynolds, C.A., Estrada, A.H., Prosek, R., Maisenbacher, H.W., Sleeper, M.M. & Oyama, M.A. (2009). *Effect of azotemia on serum N-terminal proBNP concentration in dogs with normal cardiac function: a pilot study*. Journal of Veterinary Cardiology, 11:S81–S86.
- Schober, K.E. (2005). Biochemical markers of cardiovascular disease. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. (6th Ed). (pp. 940-947). St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Schrier, R.W. & Abraham, W.T. (1999). *Hormones and hemodynamics in heart failure*. New England Journal of Medicine, 341 (8): 577 – 585.
- Schulman, R.L. (2010). *Feline primary hyperaldosteronism*. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 40: 353 - 359.
- Sharkey, L.C., Berzina, I., Ferasin, L., Tobias, A.H., Lulich, J.P., & Hegstad-Davies, R.L. (2009). *Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in dogs with renal failure*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 234:767–770.
- Shin, D.M., Jeon, J.H., Kim, C.W., Cho, S.Y., Lee, H.J., Jang, G.Y., Jeong, E.M., Lee, D.S., Kang, J.H., Melino, G., Park, S.C. & Kim, I.G. (2008). *TGF-beta mediates activation of transglutaminase 2 in response to oxidative stress that leads to protein aggregation*. The FASEB Journal, 22: 2498 – 2507.

- Sies, H. (1991). *Oxidative stress: from basic research to clinical application*. American Journal of Medicine, 91 (3C): 31S – 38S.
- Simpson, K.E., Gunn-Moore, D.A., Shaw, D.J., French, A.T., Dukes-McEwan, J., Moran, C.M. & Corcoran, B.M. (2009). *Pulsed-wave doppler tissue imaging velocities in normal geriatric cats and geriatric cats with primary or systemic diseases linked to specific cardiomyopathies in humans, and the influence of age and heart rate upon these velocities*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 11: 293-304.
- Singh, D., Kaur, R., Chander, V. & Chopra, K. (2006). *Antioxidants in the prevention of renal disease*. Journal of Medicinal Food, 9 (4): 443 - 450.
- Sleeper, M.M., Clifford, C.A. & Laster, L.L. (2001). *Cardiac troponin I in the normal dog and cat*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 15: 501–503.
- Smith, C.E., Freeman, L.M., Rush, J.E., Cunningham, S.M. & Biourge, V. (2007). *Omega-3 fatty acids in Boxer dogs with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 21 (2): 265-273.
- Solter, P.F. (2007). *Clinical biomarkers of cardiac injury and disease* [versão electrónica]. In Proceeding of the ACVP/ASVCP: Concurrent Annual Meetings. November 10-14, 2007. Savannah, Georgia. Acedido em Novembro. 6, 2015, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/acvp/2007/solter.pdf?LA=1>.
- Steigerwalt, S., Zafar, A., Mesiha, N., Gardin, J. & Provenzano, R. (2007). *Role of aldosterone in left ventricular hypertrophy among African-American patients with end-stage renal disease on hemodialysis*. American Journal of Nephrology, 27 (2): 159 – 163.
- Stenvinkel, P. (2002). *Inflammation in end-stage renal failure: could it be treated?* Nephrology Dialysis Transplant, 17 (S8): 33 – 38.
- Stenvinkel, P., Carrero, J.J., Axelsson, J., Lindholm, B., Heimbürger, O., & Massy, Z. (2008). *Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle?*. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 3: 505–521.
- Strozecki, P., Adamwicz, A., Nartowicz, E., Odrowaz-Supniewska, G., Włodarczyk, Z & Manitius, J. (2001). *Parathormon, calcium, phosphorus, and left ventricular structure and function in normotensive hemodialysis patients*. Renal Failure, 23 (1): 115 -126.
- Sun, Y., Zhang, J., Zhang, J.Q. & Ramires, F.J. (2000). *Local angiotensin II and transforming growth factor-beta1 in renal fibrosis of rats*. Hypertension, 35: 1078 – 1084.
- Syme, H.M. (2009). *Proteinuria in cats. Prognostic marker or mediator?* Journal of Feline Medicine and Surgery, 11: 211-8.
- Syme, H. M. & Dongen, A. M. (2009). *A practical approach to chronic kidney disease (CKD) in cats: improving diagnosis*. Proceedings of Voorjaarsdagen European Veterinary Conference. Amsterdam, Netherlands: 2-4.
- Syme, H.M., Markwell, P., Pfeiffer, D. & Elliott, J. (2006). *Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria*. Journal of Veterinary Internal Medicine 2006; 20(3): 528-35.

- Szczubial, M., Kankofer, M., Lopuszynski, W., Dabrowski, R., Lipko, J. (2004). *Oxidative stress parameters in bitches with mammary gland tumors*. Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine, 51 (7-8): 336 – 340.
- Taki, K., Nakamura, S., Miglinas, M., Enomoto, A. & Niwa, T. (2006). *Accumulation of indoxyl sulfate in OAT1/3-positive tubular cells in kidneys of patients with chronic renal failure*. Journal of Renal Nutrition, 16, 199-203.
- Tanner, A.E., Martin, J. & Sake, K.E. (2007). *Oxidative stress and inflammatory state induced by obesity in the healthy feline*. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 91 (3-4): 163 – 166.
- Taugner, F., Baatz, G. & Nobiling, R. (1996). *The renin-angiotensin system in cats with chronic renal failure*. Journal of Comparative Pathology, 115 (3): 239 – 252.
- Tecles, F., Caldín, M., Tvarijonaviciute, A., Escribano, D., Martínez-Subiela, S. & Cerón, J.J. (2015). *Serum biomarkers of oxidative stress in cats with feline infectious peritonitis*. Research in Veterinary Science, 100: 12 – 17.
- Tejera, N., Gomez-Garre, D., Lazaro, A., Gallego-Delgado, J. Alonso, C, Blanco, J., Ortiz, A. & Egido, J (2004). *Persistent proteinuria up-regulates angiotensin II type 2 receptor and induces apoptosis in proximal tubular cells*. The American Journal of Pathology, 164: 1817 – 1826.
- Terri, D.F. (2008). Cardiac biomarkers: A blood test for heart disease? [versão electrónica]. In Proceeding of the LAVC – Latin American Veterinary Conference, Oct. 3-6, 2008, Lima, Peru. (pp. 30-33). Acedido em Novembro 3, 2015, disponível em: www.ivis.org/proceedings/lavc/2008/francesco_terri.pdf
- Timmons, R.M.& Webb, C.B (2016). *Vitamin E supplementation fails to impact measures of oxidative stress or the anaemia of feline chronic kidney disease: a randomised, double-blinded placebo control study*. Veterinary Medicine and Science. Acedido em Fevereiro 2, 2016, disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/vms3.21/full>
- Tonelli, M., Wiebe, N., Culleton, B., House, A., Rabbat, C., Fok, M., McAlister, F. & Garg, A.X. (2006). *Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review*. Journal of the American Society of Nephrology, 17 (7): 2034-2047.
- Tumlin, J.A., Costanzo, M.R., Chawla, L.S., Herzog, C.A., Kellum, J.A., McCullough, P.A. & Ronco, C. (2013). *Cardiorenal syndrome type 4: insights on clinical presentation and pathophysiology from the eleventh consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI)*. Contributions to Nephrology, 182:158–173.
- Tvarijonaviciute, A., Ceron, J.J., Holden, S.L., Morris, P.J., Biourge, V. & German AJ. (2012). *Effects of weight loss in obese cats on biochemical analytes related to inflammation and glucose homeostasis*. Domestic Animal Endocrinology, 42 (3): 129- 141.
- Unsal, A., Budak S., Koc, Y., Basturk, T., Sakaci, T., Ahbap & E., Sinangil, A. (2012). *Relationship of fibroblast growth factor 23 with left ventricle mass index and coronary calcificaton in chronic renal disease*. Kidney and Blood Pressure Research, 36: 55–64.

- Unver, S., Kavlak, E., Gumusel, H.K., Celikbilek, F., Esertas, K., Muftuoglu, T. & Kirilmaz, A. (2015). *Correlation between hypervolemia, left ventricular hypertrophy and fibroblast growth factor 23 in hemodialysis patients*. Renal Failure, 37 (6): 951 – 956.
- Uttara, B., Singh, A.V., Zamboni, P. & Mahajan, R.T. (2009). *Oxidative stress and neurodegenerative disease: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options*. Current Neuropharmacology, 7 (1): 65 – 74.
- Vaden, S.L. (2011). *Glomerular disease*. Topics in Companion Animal Medicine, 26 (3): 128-134.
- Vajdovich, P., Kriska, T., Mézes, M., Szabó, P.R., Balogh, N., Bánfi, A., Arany-Tóth, A., Gaál, T. & Jakus, J. (2005). *Redox status of dogs with non-hodgkin lymphomas. An ESR study*. Cancer Letters, 224: 339 - 346.
- Van Hoek, I. & Daminet, S. (2009). *Interactions between thyroid and kidney function in pathological conditions of these organ systems: a review*. General and Comparative Endocrinology, 160 (3): 205-215.
- Vanholder, R. De Smet, R., Glorieux, G., Argilés, A., Baurmeister, U., Brunet, P., Clark, W., Cohen, G., De Deym, P.P., Deppisch, R., Descamps-Latscha, B., Henle, T., Jorres, A., Lemke, H.D., Massy, Z.A., Passlick-Deetjen, J., Rodriguez, M., Stegmayr, B., Stenvinkel, P., Tetta, C., Wanner, C., Zidek, W. & European Uremic Toxin Work Group (EUTox). (2003). *Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability*. Kidney International, 63 (5): 1934 – 1943.
- Vannuchi, H., Moreira, da Cunha, E.A., Junqueira-Franco, D.F., Bernardes, M.V. & Jordão Jr., A.A. (1998). *Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante*. Simpósio: Nutrição Clínica, 31: 31 – 44.
- Veselá, A., & Wilhelm, J. (2003). *The Role of Carbon Dioxide in Free Radical Reactions of the Organism*. Physiology Research, 51: 335-339.
- Viswanathan, G. & Gilbert, S. (2011). *The Cardiorenal Syndrome: Making the Connection*. International Journal of Nephrology, ID: 283137. Acedido em Novembro 25, 2015, disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/ijn/2011/283137/>
- Von Sonntag, C. (1987). *The chemical basis of radiation biology*. Taylor & Francys, London.
- Waldum, B. & Os, I. (2013). *The cardiorenal syndrome: what the cardiologist needs to know*. Cardiology, 126:175–86.
- Walker, T.G., Chan, D.L., Freeman, L.M., Milbury, P.E. & Blumberg, J.B. (2007). *Serial determination of biomarkers of oxidative stress and antioxidant status in dogs with naturally occurring gastric dilatation-volvulus*. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care, 17: 697 - 802.
- Waz, W.R. & Feld, L.G. (1994). *Reactive oxygen molecules in the kidney*. Advances in Experimental Medicine and Biology, 366: 171 – 83.
- Webb, C., Lehman, T., McCord, K., Avery, P. & Dow, S. (2008). *Oxidative stress during acute FIV infection in cats*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 122 (1-2): 16 – 24.

- Webb, C.B. & Falkowski, L. (2009). *Oxidative stress and innate immunity in feline patients with diabetes mellitus: the role of nutrition*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 11 (4): 271 – 6.
- Wei, Y.H. (1998). *Oxidative stress and mitochondrial DNA mutations in human aging*. Proceedings of the society for Experimental Biology and Medicine, 217 (1): 53 – 63.
- White, K.E., Evans, W.E., O' Riordan, J.L., Speer, M.C., Econs, M.J., Lorenz-Depiereux, B., Grabowski, M., Meitinger, T. & Strom, T.M. (ADHR Consortium) (2000). *Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF-23*. Nature Genetics, 26: 345 - 348.
- White, J.D., Norris, J.M., Baral, R.M. & Malik, R. (2006). *Naturally-occurring chronic renal disease in Australian cats: a prospective study of 184 cases*. Australian Veterinary Journal, 84: 188-194.
- White, J.D., Norris, J.M., Bosward, K.L., Fleay, R., Lauer, C & Malik, R. (2008). *Persistent haematuria and proteinuria due to glomerular disease in related Abyssinian cats*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 10 (3): 219-229.
- White, J. D, Norris, J. M., Bosward, K. L., Lauer, C., Malik, R. & Canfield, P. (2007). *Feline Chronic Renal Disease*. In Proceedings of the Faculty of Veterinary Science, 2007 Postgraduate Conference. 29 – 30 Outubro 2007, Sidney, Australia. (pp. 81 – 84). Acedido em Novembro 4, 2015, disponível em: http://sydney.edu.au/vetscience/research/documents/PostGrad_Proceedings_2007.pdf
- White, J.D., Stevenson, M., Malik, R., Snow, D. & Norris, J.M. (2012). *Urinary tract infections in cats with chronic kidney disease*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 15(6): 459–465.
- Whittemore, J.C., Hawley, J.R., Jensen, W.A. & Lappin, M.R. (2010). *Antibodies against Crandell Rees feline kidney (CRFK) cell line antigens, alpha-enolase, and annexin A2 in vaccinated and CRFK hyperinoculated cats*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 24: 306–313.
- Wikoff, W.R., Anfora, A.T., Liu, J., Schultz, P.G., Lesley, S.A., Peters, E.C. & Siuzdak, G. (2009). *Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 106: 3698-3703. Acedido em Novembro 4, 2015, disponível em: <http://www.pnas.org/content/early/2009/02/19/0812874106>
- Wilson, H.E., Jasani, S., Wagner, T.B., Benigni, L., Milne, J.R., Stokes, A.L. & Luís-Fuentes, V. (2010). *Signs of left heart volume overload in severely anaemic cats*. Journal of Feline Medicine and Surgery, 12:904–909.
- Winter, J.L., Barber, L.G., Freeman, L., Griessmayr, P.C., Milbury, P.E. & Blumberg, J.B. (2009). *Antioxidant status and biomarkers of oxidative stress in dogs with lymphoma*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 23 (2): 311-316.
- Wink, D.A., Miranda, K.M. & Espey, M.G. (2000). *Effects of oxidative stress and nitrosative stress in cytotoxicity*. Seminars in Perinatology, 24 (1): 20- 23.
- Wolf, G. (2006). *Renal injury due to renin-angiotensin-aldosterone system activation of the transforming growth factor-beta pathway*. Kidney International, 70: 1914 – 1919.

- Wolf, G., Wenzel, U., Burns, K.D., Harris, R.C., Stahl, R.A., & Thaiss, F. (2002). *Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappaB through AT1 and AT2 receptors*. *Kidney International*, 61: 1986–1995.
- Woo, P.C, Lau, S.K, Wong, B.H., Fan, R.Y., Wong, A.Y., Zhang, A.J., Wu, Y., Choi, G.K., Li, K.S., Hui, J., Wang, M., Zheng, B.J., Chan, K.H. & Yuen, K.Y. (2012). *Feline morbillivirus, a previously undescribed paramyxovirus associated with tubulointerstitial nephritis in domestic cats*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109: 5435–5440.
- Wu, C.F., Chiang, W.C., Lai, C.F., Chang, F.C., Chen, Y.T., Chou, Y.H., Wu, T.H., Linn, G.R., Ling, H., Wu, K.D., Tsai, Y.J., Chen, Y.M., Duffield, J.S. & Lin, S.L. (2013). *Transforming growth factor beta-1 stimulates profibrotic epithelial signaling to activate pericyte-myofibroblast transition in obstructive kidney fibrosis*. *The American Journal of Pathology*, 182: 118 - 131.
- Wynn, T.A. (2010). *Fibrosis under arrest*. *Nature Medicine*, 16: 523 – 525.
- Xie, Y., Sakatsume, M., Nishi, S., Narita, I., Arakawa, M. & Gejyo, F. (2001). *Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney*. *Kidney International*, 60: 1645 - 1657.
- Xu, J., Bourgeois, H., Vandermeulen, E., Vlaeminck, B., Meyer, E., Demeyere, K. & Hesta, M. (2015). *Secreted phospholipase A2 inhibitor modulates fatty acid composition and reduces obesity-induced inflammation in Beagle dogs*. *Veterinary Journal*, 204 (2): 214 – 219.
- Yabuki, A., Mitani, S. Fujiki, Misumi, M. K., Endo, Y. Miyoshi & Yamato, N.O. (2010). *Comparative study of chronic kidney disease in dogs and cats: Induction of myofibroblasts*. *Research in Veterinary Science*, 88, 294–299.
- Yilmaz, M.I., Sonmez, A., Saglam, M., Yaman, H., Kilic, S., Eyileten, T., Caglar, K., Oguz, Y., Vural, A., Yenicesu, M., Mallamaci, F. & Zoccali, C. (2012). *Comparison of calcium acetate and sevelamer on vascular function and fibroblast growth factor 23 in CKD patients: a randomized clinical trial*. *American Journal of Kidney Disease*, 59 (2): 177 – 185.
- Yokoi, H., Sugawara, A., Mukoyama, M., Mori, K., Makino, H., Suganami, T., Nagae, T., Yahata, K., Fujinaga, Y., Tanaka, I. & Nakao, K. (2001). *Role of connective tissue growth factor in profibrotic action of transforming growth factor-beta: A potential target for preventing renal fibrosis*. *American Journal of Kidney Diseases*, 38: S134 - S138.
- Yonewaza, L.A., Silveira, V.F., Machado, L.P. & Kohayagawa, A. (2009). *Marcadores cardíacos na medicina veterinária [versão eletrônica]*. In *Ciência Rural*, 40 (1), Santa Maria, Jan./Fev. 2010. Acedido em Nov 17, 2015, disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009005000227&script=sci_arttext
- Yu, S. & Paetau-Robinson, I. (2006). *Dietary supplements of vitamins E and C and beta-carotene reduce oxidative stress in cats with renal insufficiency*. *Veterinary Research Communications*, 30 (4): 403 – 413.
- Zel, M. K., Tozon, N. & Svete, A.N. (2014). *Plasma and erythrocyte glutathione peroxidase activity, serum selenium concentration, and plasma total antioxidant capacity in cats with IRIS stages I–IV chronic kidney disease*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28: 130-136.

- Zell, S., Schmitt, R., Witting, S., Kreipe, H.H., Hussein, K. & Becker, J.U. (2013). *Hypoxia induces mesenchymal gene expression in renal tubular epithelial cells: An in vitro model of kidney transplant fibrosis*. Nephron Extra, 3:50 – 58.
- Zoja, C., Benigni, A. & Remuzzi, G. (1999). *Protein overload activates proximal tubular cells to release vasoactive and inflammatory mediators*. Experimental Nephrology, 7: 420-428.

V. Anexos

Anexo 1. Folheto de divulgação utilizado durante a campanha de rastreio de doença renal crónica no Hospital Escolar Veterinário.

The flyer features a dark grey background with a blue and yellow gradient header. The main text is in white and yellow. A blue starburst graphic contains the text 'CONSULTA GRÁTIS'. The bottom half of the flyer shows a close-up of a black cat's face, looking upwards.

DOENÇA RENAL CRÓNICA

**O SEU GATO TEM
MAIS DE 8 ANOS?**

**INFORME-SE E PROTEJA O SEU GATO
FAÇA O RASTREIO DE DOENÇA RENAL CRÓNICA
NO HOSPITAL ESCOLAR**

**CONSULTA
GRÁTIS**



Ligue ou envie email para marcar a sua consulta

■ rastreiorenal@gmail.com

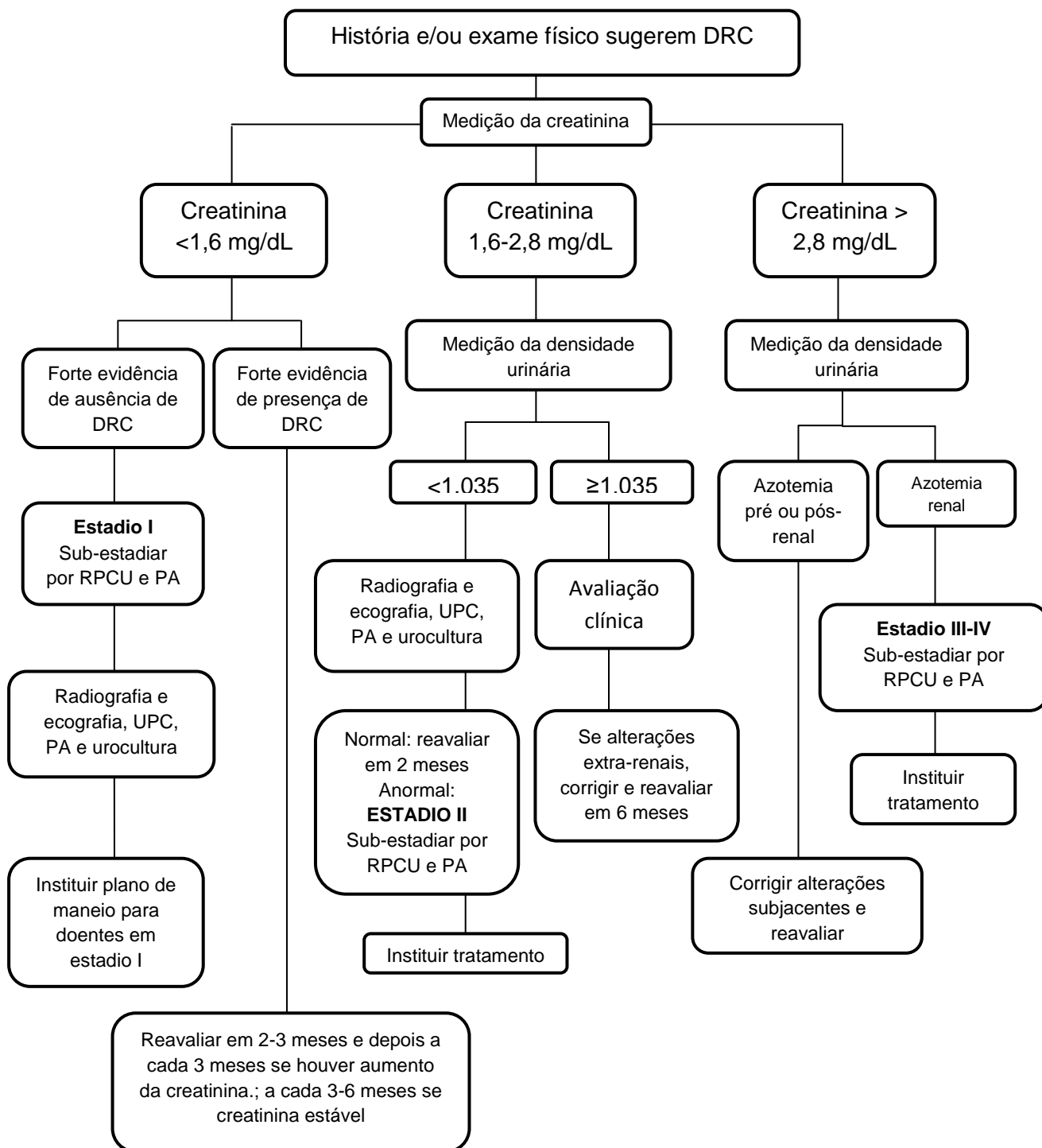
☎ 968 517 307

Anexo 2. Protocolo de uma sessão de medição de pressão arterial, respeitando as normas propostas pelo American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) e pela Internacional Society of Feline Medicine (ISFM) (Brown *et al.*, 2008; Sparkes *et al.*, 2015).

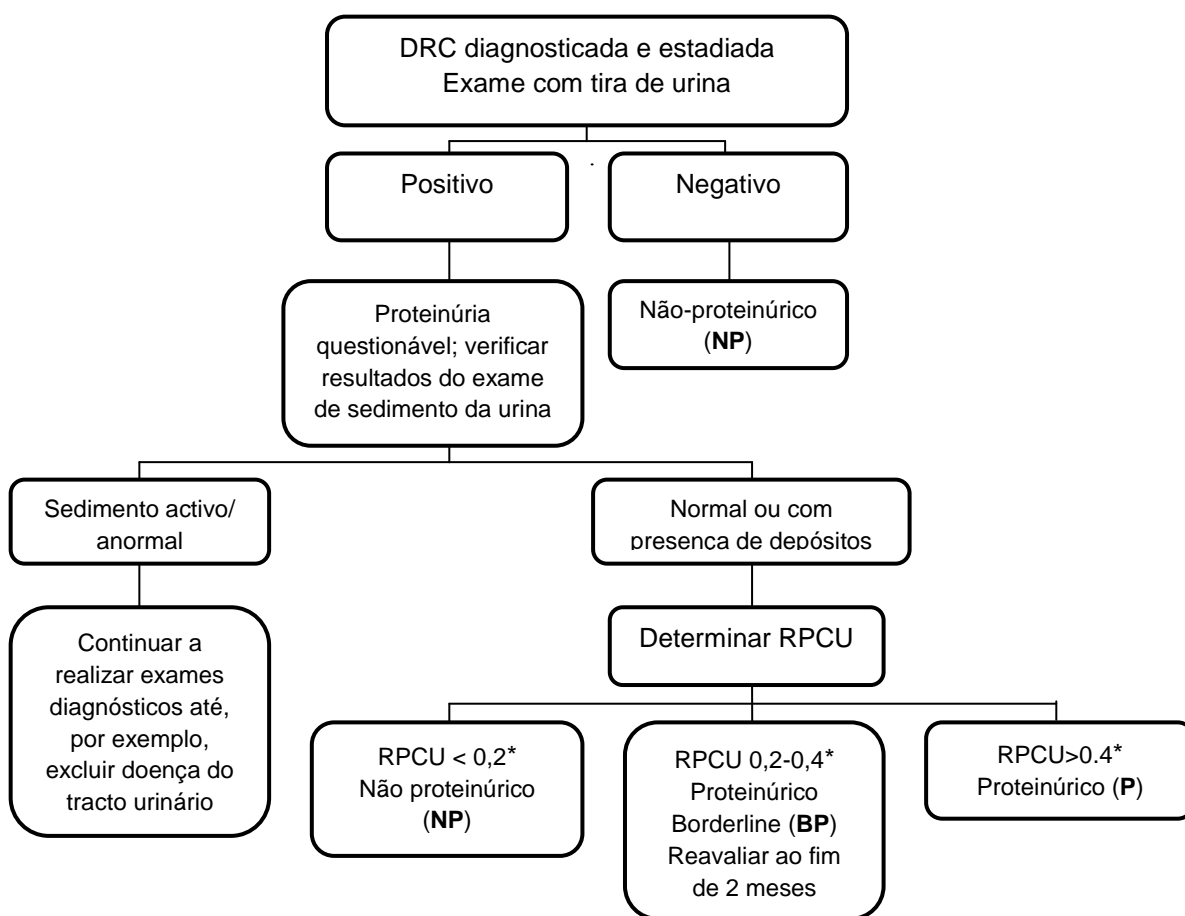
1. É essencial que o local onde serão feitas as medições, seja um local calmo, isolado, distante de outros animais, com o mínimo de pessoas necessárias, sem quaisquer outros procedimentos em curso e sem interrupções.
2. Dever-se-á aguardar durante um período mínimo de 5-10 minutos antes de iniciar as medições, permitindo que o gato se possa aclimatizar ao ambiente circundante, sendo livre de explorar e interagir com quem ele quiser.
3. Durante as medições o gato deverá estar numa posição confortável, com o mínimo de contenção possível, preferencialmente em decúbito lateral ou ventral e com o *cuff* a uma distância não superior a 10 cm da base do coração (caso não se verifique, adicionar um factor de correcção de 0,8 mmHg por cada centímetro a mais em relação à base do coração).
4. O *cuff* do aparelho deverá corresponder a aproximadamente 30-40 % da circunferência do local onde será colocado, registando o tamanho deste, bem como o local onde foi colocado, para futuras medições. O *cuff* poderá ser colocado num membro ou na cauda e irá variar de acordo com a conformação do animal e a preferência do operador. Estas devem ser realizadas preferencialmente pela mesma pessoa.
5. Devem ser realizadas pelo menos 3 e preferencialmente 5-7 medições consecutivas e consistentes (<20% de variabilidade nos valores sistólicos), descartando sempre a primeira medição.
6. Repetir as vezes necessárias e mudando o *cuff* até se obterem valores consistentes.
7. Por último, fazer a média dos resultados para se obterem os valores finais de pressão arterial.

Anexo 3. Metodologia IRIS para classificação da DRC em gatos.

3.1. Algoritmo para o estadiamento em função da concentração de creatinina creatinina (IRIS, 2015).



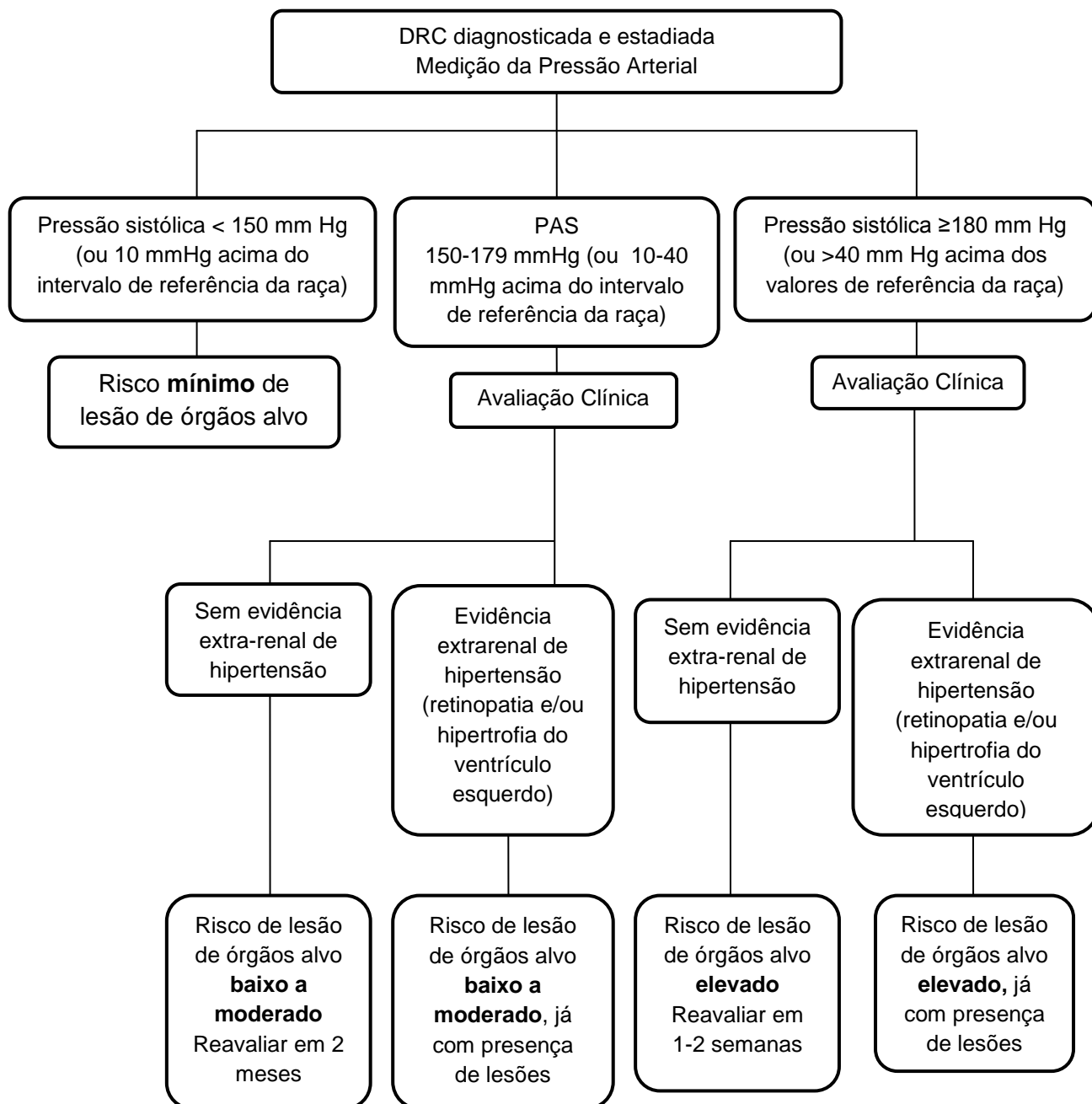
Anexo 3.2. Algoritmo para o sub-estadiamento em função do RPCU no gato (IRIS,2015)



* Demonstrar persistência da proteinúria através da reavaliação:

- em 2 semanas a 2 meses se **BP**;
- em 2-4 semanas se **P**.
- Se UPC >2 não é necessário demonstrar persistência para iniciar a terapêutica (proteinúria grave)

Anexo 3.3. Sub-estadiamento em função da pressão arterial (IRIS,2015).



Anexo 4. Folha de monitorização para registo de dados clínicos relativos aos animais da amostra em estudo.

FICHA DE MONITORIZAÇÃO

IDENTIFICAÇÃO

NOME: _____ IDADE: _____ PESO: _____ SEXO (M/F/MC/FC) RAÇA: _____

PROPRIETÁRIO: _____

ANAMNESE E EXAME FÍSICO

Sinais Apresentados	(X) se presente	
Letargia		Dieta: Manutenção/Geriátrico/Renal/Outra.Qual? _____
Poliúria		
Polidipsia		Vacinação: em dia/em atraso/Frequência: _____
Desidratação		
Perda de Peso		Histórico de cirúrgias/outras procedimentos sob anestesia ou sedação realizados: _____
Anorexia		
Vômito		
Diarreia		
Halitose		Histórico de FLUDT: Não/Sim
Doença periodontal		
Outro:		Estatuto FIV/FelV: Neg/Não sabe/Não fez/FIV/FelV

MEDIÇÃO PRESSÃO ARTERIAL

Local do Cuff: MAE/MAD/MPE/MPD/Base da cauda

Posição do gato: Decúbito lateral esquerdo; lateral direito; esternocostal/Esfinge/Sentado/Estação

Atitude: Calmo/Nervoso/Agitado

	1	2	3	4	5	6	7	Valor médio
PAS (mmHg)								
PAM (mmHg)								
PAD (mmHg)								
FC (bpm)								

Número das análises laboratoriais:

Número das amostras a -80°C:

- Amostra de soro:
- Amostra de urina:

Anexo 5.

Anexo 5.1. Tabela de dados relativos aos animais participantes no estudo – Grupo DRC

Animal	Sexo	Idade	Peso	Creat	Ureia	P	Htc	Pts	Glicemia	DUE	RPCU	PAS	PAM	PAD	Estadio ¹	Proteinuria ¹	PA ¹
1	M	12	4,7	2,1	82,3	3,9	33,3	8,2	50	1,019	0,2	142	108	90	II	BP	Mínimo
2	M	12	4,4	1,38	80,3	3,4	35,7	7,9	75	1,025	0,45	131	100	83	I	P	Mínimo
3	M	8	6,2	2,28	68	3,1	38,8	8,4	120	1,035	0,08	140	102	89	II	NP	Mínimo
4	F	10	6	2,34	69,6	3,4	35	7,4	99	1,024	0,09	137	107	89	II	NP	Mínimo
5	M	15	3,8	1,83	71,1	3,7	32,4	7,8	154	1,012	0,05	172	110	89	II	NP	Moderado
6	F	10	2,9	2,71	119,4	5	25	8	54	1,028	0,07	137	97	74	II	NP	Mínimo
7	F	12	3,8	1,22	56,1	3,5	43	8	66	1,018	0,27	136	107	90	I	BP	Mínimo
8	M	10	5,3	3,24	107,2	6,2	34,2	8,2	68	1,012	0,47	132	94	78	III	P	Mínimo
9	M	15	7,1	2,09	78,1	4,4	35	8,2	115	1,022	0,4	134	102	89	II	P	Mínimo
10	F	14	4,2	1,51	73	5,5	32	8,4	126	1,028	0,12	120	95	80	I	NP	Mínimo

Anexo 5.2. Tabela de dados relativos aos animais participantes no estudo – Grupo Controlo

Animal	Sexo	Idade	Peso	Creat	BUN	P	Htc	Pts	Glicemia	DUE	PAS	PAM	PAD
11	F	13	4,8	1,53	42	3,8	39,1	8,5	137	>1,050	121	96	82
12	F	10	5,4	1,3	50,5	3,8	36	8,4	78	>1,050	143	106	85
13	M	10	5	1,41	56,4	4,3	40	7,8	88	>1,050	129	100	90
14	F	9	4,6	1,29	57,9	5,1	36	8	70	>1,050	123	100	86
15	F	8	7,5	0,92	56,5	5,7	40	8,2	115	>1,050	147	108	87
16	F	12	5	1,04	54,5	3,6	34,7	7,8	102	>1,050	116	89	73
17	M	8	4,5	1,2	57,1	5,1	37,6	8,5	150	>1,050	129	101	85
18	F	10	4	1,5	51,3	4,2	37	7,6	99	>1,050	113	85	70
19	F	10	5,2	1,5	46	4,3	36,2	7,5	87	>1,050	119	91	75
20	F	12	6,7	1,42	72,8	3,8	43,8	8,4	75	>1,050	135	105	89

Legenda: "F" sexo feminino,"M" sexo masculino,"Creat" concentração plasmática de creatinina (mg/dL),"Ureia" concentração plasmática de ureia (mg/dL),"P" concentração plasmática de fósforo (mg/dL),"Htc" Hematócrito (%),"Pts" proteínas totais plasmáticas,"DUE" densidade urinária específica,"RPCU" rácio proteína-creatinina urinária,"PAS" pressão arterial sistólica,"PAM" pressão arterial média,"PAD" pressão arterial diastólica,"FC" frequência cardíaca.

Anexo 5.3. Tabela de dados relativos aos animais participantes no estudo (Medições ecocardiográficas) – Grupo DRC

+											
Longitudinal		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Pld	4,67	2,92	4,6	4,09	5,26	5,11	4,6	5,26	5,62	4,09	
	Pls	6,42	5,84	8,69	6,64	9,93	7,15	8,18	5,84	8,03	5,11
DVEd	14,6	15,77	14,82	12,46	16,35	12,26	14,82	12,26	18,47	10,73	
DVEs	4,67	7,59	7,66	7,15	6,42	5,62	6,13	5,84	9,64	5,62	
SIVd	5,26	2,92	4,09	4,6	4,09	4,09	3,58	4,09	4,82	4,09	
SIVs	9,93	5,26	6,13	6,64	8,18	7,66	7,15	8,18	8,03	7,15	
FE	68	52	48	42	61	54	59	52	48	48	
AE/Ao	1,3	1,54	1,29	1,42	1,7	1,37	1,01	1,28	1,23	1,4	
Transversal											
Pld	3,58	4,09	4,09	4,6	3,5	4,09	4,6	4,09	5,62	4,09	
	Pls	7,15	9,34	7,15	7,15	7,59	6,64	7,66	6,42	8,83	5,1
DVEd	14,31	16,93	16,35	15,84	16,35	13,28	14,82	19,27	12,85	10,8	
DVEs	6,13	5,84	7,66	7,15	7,01	7,15	6,13	8,76	7,23	5,62	
SIVd	4,09	2,92	4,09	3,58	5,26	3,58	4,6	4,67	4,82	4,09	
SIVs	6,64	6,42	7,66	7,66	8,18	7,66	9,2	7,59	9,64	6,13	
FS	57	66	53	55	57	46	59	55	44	48	
FC	169	180	208	216	180	225	225	193	203	235	

Anexo 5.4. Tabelas de dados relativos aos animais participantes no estudo (Medições ecocardiográficas) – Grupo Controlo

Longitudinal		25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
PLd	5,11	3,07	5,84	4,09	4,09	5,62	4,6	4,6	4,6	4,6	3,21
	PLs	7,15	6,13	8,18	6,13	7,15	8,69	6,64	6,13	8,69	7,23
DVEd	12,26	14,31	14,6	12,26	15,84	14,82	19,42	10,73	14,82	19,27	
	DVEs	5,62	6,64	6,42	5,62	9,2	8,69	10,22	5,11	6,13	12,04
SIVd	3,58	4,09	4,67	3,58	4,09	3,58	3,58	4,6	4,09	4,01	
	SIVs	8,18	8,18	7,59	7,15	7,66	6,13	7,66	6,64	7,15	6,42
FE	54	54	56	54	42	41	47	52	52	59	38
	Ae/Ao	1,24	1,41	1,25	1,30	1,09	1,39	1,55	1,29	1,15	1,45
Transversal											
PLd	3,58	4,6	3,5	4,09	5,11	4,09	4,09	4,6	4,09	5,62	
	PLs	5,62	6,64	7,01	6,13	7,15	6,64	8,69	7,66	6,13	8,03
DVEd	16,86	13,8	19,27	17,88	17,88	18,39	15,84	13,28	12,77	16,06	
	DVEs	8,18	7,15	8,76	9,71	10,22	9,2	7,66	5,11	6,64	9,64
SIVd	3,58	5,11	4,67	3,58	4,09	3,07	3,58	4,09	4,09	4,01	
	SIVs	8,18	8,69	9,34	7,66	6,64	6,64	7,66	8,69	7,66	8,03
FS	52	48	55	46	43	50	52	62	48	40	
	FC	175	193	193	208	216	155	175	175	200	214

Legenda: "PLVes" Parede livre do ventrículo esquerdo em sístole; "PLVEd" Parede livre do ventrículo esquerdo em diástole; "SIVs" Septo interventricular em sístole; "SIVd" Septo interventricular em diástole; "DVEs" Diâmetro do ventrículo esquerdo em sístole; "DVEd" Diâmetro do ventrículo esquerdo em diástole; "FE" Fração de encurtamento; "FC" Frequência cardíaca; "AE/Ao" Rácio átrio esquerdo/aorta.

Anexo 5.5. Tabelas de dados relativos aos animais participantes no estudo: Troponina cardíaca (cTnI) e Capacidade antioxidante total (TAC) – Grupo DRC

Animal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tro1	0,043	0,023	0,029	0,021	0,116	0,03	0,108	0,24	0,035	0,103
Tro2	0,041	0,025	0,031	0,021	0,12	0,03	0,111	0,233	0,04	0,112
μ	0,042	0,024	0,03	0,021	0,118	0,03	0,1095	0,2365	0,0375	0,1075
SD	0,001414	0,001414	0,001414	0	0,002828	0	0,002121	0,00495	0,003536	0,006364
CV	3,367175	5,892557	4,714045	0	2,396972	0	1,937279	2,092916	9,42809	5,919964
TAC	39,49594	27,61609	42,87713	38,58211	32,82495	33,28187	26,4281	46,16694	38,94764	26,33672

Anexo 5.6. Tabelas de dados relativos aos animais participantes no estudo: Troponina cardíaca (cTnI) e Capacidade antioxidante total (TAC) – Grupo Controlo

Animal	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Tro1	0,01	0,016	0,06	0,015	0,057	0,037	0,006	0,01	0,013	0,017
Tro2	0,009	0,018	0,064	0,016	0,054	0,028	0,006	0,011	0,014	0,015
μ	0,095	0,017	0,062	0,0155	0,0555	0,0325	0,006	0,0105	0,0135	0,016
SD	0,000707	0,001414	0,002828	0,000707	0,002121	0,006364	0	0,000707	0,000707	0,001414
CV	7,443229	8,318903	4,561979	4,561979	3,822199	19,58142	0	6,73435	5,237828	8,838835
TAC	23,35132	25,25451	22,9893	25,25451	29,14364	26,33023	21,03439	23,51681	28,81265	29,14364

Legenda: "CV" Coeficiente de variação; "SD" Desvio-Padrão; "μ" média; "Tro 1 e 2" Medições de troponina realizadas por cada amostra.